

Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Studijní program: Preventivní medicína a epidemiologie

Dizertační práce

Monoklonální gamapatie u pacientů po transplantaci solidních orgánů.

Vztah mezi potransplantační imunosupresí a lymfoproliferativními
onemocněními.

Monoclonal gammopathies in patients after solid organ transplantation.

Relationship between posttransplantation immunosuppression and
lymphoproliferative disease.

MUDr. Peter Sečník

Školitel: MUDr. Janka Franeková, Ph.D.

Konzultant: prof. MUDr. Antonín Jabor, CSc.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací. Prohlašuji, že odevzdaná tištěná verze práce a verze elektronická nahraná do Studijního informačního systému (SIS 3.LF UK) jsou totožné.

V Praze, 12.04.2021

Peter Sečník

Identifikační záznam:

SEČNÍK, Peter. Monoklonální gamapatie u pacientů po transplantaci solidních orgánů. Vztah mezi potransplantační imunosupresí a lymfoproliferativními onemocněními. [Monoclonal gammopathies in patients after solid organ transplantation. Relationship between posttransplantation immunosuppression and lymphoproliferative disease]. Praha, 2021. Počet stran: 113, počet příloh: 3. Doktorská dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav imunologie a klinické biochemie. Vedoucí závěrečné práce a školitel: MUDr. Janka Franeková Ph.D.

Klíčová slova:

transplantace; PTLD; gamapatie; elektroforéza; imunofixace; lymfoproliferace; volné lehké řetězce; screeningový algoritmus

transplantation; PTLD; gammopathy; electrophoresis; immunofixation; lymphoproliferation; free light chains; screening algorithm

Poděkování

Za prvotní podnět, odborné vedení a cenné rady v průběhu doktorského studia patří velké poděkování mé školitelce a konzultantovi

prim. MUDr. Janke Franekové, Ph.D. a prof. MUDr. Antonínu Jaborovi, Csc.

Za velkou pomoc při statistickém zpracování dat děkuji mému bratrovi Jurajovi.

Za neocenitelnou podporu a obdivuhodnou trpělivost děkuji mojí manželce Zuzaně a mým rodičům.

Abstrakt

Úvod: Pacienti po transplantaci solidních orgánů (TX) mají vysoké riziko potransplantačního lymfoproliferativního onemocnění (PTLD). Jednou z kandidátních metod pro identifikaci zvýšeného rizika rozvoje PTLD jsou vyšetření pro detekci abnormální syntézy imunoglobulinů – gamapatií (GP).

Cíle: Určit frekvenci výskytu potransplantačních GP a PTLD, analyzovat dopad GP a PTLD na potransplantační morbiditu a mortalitu, verifikovat asociaci mezi GP a PTLD, identifikovat a analyzovat laboratorní markery časného stadia PTLD a využít získaná data a závěry k návrhu efektivní strategie diagnostiky PTLD.

Metodika: Základní soubor tvořilo 8034 pacientů po TX provedené v Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze v letech 1966-2018. Pro každou ze 3 provedených studií byla ze základního souboru vytvořena specifická kohorta (studie 1: 5667 pacientů, studie 2: 96 pacientů, studie 3: 7828 pacientů). Kromě metod popisné statistiky a standardních epidemiologických ukazatelů (incidence risk, incidence rate) byly provedeny dva typy time-to-event analýzy (Coxova regresní analýza a analýza kompetujících rizik podle Fineho a Greye) a Kaplan-Meierova analýza přežití.

Výsledky: Zjištěná incidence PTLD byla 1,86 (95% CI 1,64-2,08) případů na 1000 osoboroků s maximem výskytu v 1. a 4.-6. roce po TX. Potransplantační GP se vyskytla u 6,4 % pacientů. Přítomnost GP po TX byla asociována s vyšším výskytem PTLD (HR 6,06; 95% CI 2,5-14,6) rejekce TX orgánu (HR 2,61; 95% CI 1,5-4,6) a úmrtí (HR 1,99; 95% CI 1,2-3,3). Spolehlivá detekce GP po TX vyžadovala kombinaci vícero metod.

Závěr: Z pozorovaných dat je zřejmá vysoká frekvence i prognostická závažnost jak PTLD, tak GP po TX. Vzhledem k zjištěným asociacím je zřejmé, že pacienty s GP po TX solidních orgánů je nutné cíleně vyhledávat a následně zvažovat případné změny v jejich potransplantačním follow-up. Metody pro detekci GP jsme proto zahrnuli do navrhovaného algoritmu pro screening PTLD jako jeden z testů první linie.

Abstract

Introduction: Solid organ transplant (TX) patients have a high risk of post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD). One of the candidate methods for identifying an increased risk of developing PTLD are laboratory tests for detection of abnormal synthesis of immunoglobulins – gammopathy (GP).

Aims: Main objectives were to determine the frequency of posttransplant GP and PTLD, analyse the impact of GP and PTLD on posttransplant morbidity and mortality, verify the association between GP and PTLD, identify and analyse laboratory markers of early stage PTLD, and use the data to design an effective PTLD diagnostic strategy.

Methods: The default cohort consisted of 8034 patients after TX performed at the Institute of Clinical and Experimental Medicine in Prague in the years 1966-2018. For each of the 3 studies performed, a specific subcohort was derived (study 1: 5667 patients, study 2: 96 patients, study 3: 7828 patients). For data evaluation, we used standard epidemiological indicators (incidence risk, incidence rate), Cox regression analysis, Fine and Grey competing risks analysis, and Kaplan-Meier survival analysis.

Results: The observed incidence of PTLD was 1.86 (95% CI 1.64-2.08) cases per 1000 person-years with a maximum incidence in the first and fourth-sixth year after TX. Post-transplant GP occurred in 6.4 % of patients. The presence of GP after TX was associated with a higher incidence of PTLD (HR 6.06; 95% CI 2.5-14.6) TX organ rejection (HR 2.61; 95% CI 1.5-4.6) and death (HR 1.99; 95% CI 1.2-3.3). Reliable detection of GP after TX required a combination of multiple methods.

Conclusions: The observed data show the high frequency and prognostic severity of both PTLD and GP after TX. Given the identified associations, it is clear that patients with posttransplant GP should be searched for and changes in their post-transplant follow-up should be considered. We therefore included methods for GP detection in the proposed algorithm for PTLD screening as one of the first-line tests.

Obsah

Úvod.....	9
1. Současný stav poznání orgánových transplantací	11
1.1. Transplantační program v České republice	11
1.2. Onkologické komplikace po orgánových transplantacích	13
1.3. Potransplantační lymfoproliferace	14
1.3.1. Incidence a mortalita PTLD	15
1.3.2. Patogeneze a rizikové faktory PTLD	16
1.3.2.1. Imunosupresivní terapie	16
1.3.2.2. EBV infekce	21
1.3.2.3. Další rizikové faktory PTLD	24
1.3.3. Klasifikace PTLD.....	24
1.3.4. Klinická manifestace PTLD.....	27
1.3.5. Diagnostika PTLD	27
1.3.6. Screening a identifikace osob v riziku rozvoje PTLD	28
1.3.7. Terapeutické postupy u pacientů s PTLD	33
2. Cíle práce a pracovní hypotéza.....	34
2.1. Cíle studie	34
2.2. Pracovní hypotéza.....	35
3. Metodika.....	36
3.1. Studie 1 – Incidence a mortalita lymfoproliferativních onemocnění v transplantované populaci	38
3.1.1. Charakteristika souboru a sběr dat	38
3.1.2. Statistická analýza.....	39
3.2. Studie 2 – Využití laboratorních metod pro detekci monoklonální gamapatie po transplantaci srdce.....	40
3.2.1. Charakteristika souboru a sběr dat	40
3.2.2. Laboratorní vyšetření a statistická analýza	43
3.3. Studie 3 – Výskyt gamapatií v potransplantačním období, analýza asociace mezi gamapatií a PTLD.....	44

3.3.1.	Charakteristika souboru a sběr dat	44
3.3.2.	Statistická analýza	49
3.3.2.1.	Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE u pacientů s PTLD	49
3.3.2.2.	Longitudinální (time-to-event) analýzy	49
4.	Výsledky	51
4.1.	Studie 1 – Incidence a mortalita lymfoproliferativních onemocnění v transplantované populaci	51
4.1.1.	Incidence PTLD	51
4.1.2.	Incidence lymfoproliferativních onemocnění v běžné populaci ČR	56
4.1.3.	Mortalita PTLD	56
4.2.	Studie 2 – Využití laboratorních metod pro detekci monoklonální gamapatie po transplantaci solidních orgánů.	58
4.2.1.	Dynamika koncentrace FLC před a po transplantaci srdce	58
4.2.2.	Porovnání shody mezi metodami SPE, SIFE a SFLC při simultánním vyšetření po transplantaci srdce	59
4.2.3.	Vývoj a charakter gamapatií v období 24 měsíců po transplantaci srdce	59
4.3.	Studie 3 – Výskyt gamapatií v potransplantačním období, analýza asociace mezi gamapatií a PTLD	60
4.3.1.	Frekvence a první výskyt gamapatií	61
4.3.2.	Současný stav využití SPE a SIFE v potransplantační péči	64
4.3.3.	Klinický význam gamapatií po TX	65
4.3.4.	Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE pro detekci PTLD	66
5.	Diskuse	68
5.1.	Incidence PTLD u pacientů po TX solidních orgánů	68
5.2.	Mortalita pacientů s PTLD	73
5.3.	Transplantace srdce	74
5.3.1.	Dynamika FLC po TX srdce	74
5.3.2.	Výskyt gamapatií po TX srdce	75
5.3.3.	Výpovědní hodnota vyšetření SPE, SIFE a SFLC po TX srdce	75
5.4.	Multifaktoriální etiologie poruch syntézy FLC po TX srdce	76
5.5.	Renální insuficience a poměr FLC κ / λ	77
5.6.	Frekvence a první výskyt gamapatií po TX solidních orgánů	77

5.7.	Klinický význam gamapatií v transplantované populaci	78
5.8.	Možnosti laboratorního screeningu PTLD u pacientů po TX solidních orgánů..	80
5.9.	Východiska navrhovaného algoritmu pro screening PTLD	86
5.10.	Vlastní návrh algoritmu.....	87
5.11.	Limitace a silné stránky provedených studií	88
5.11.1.	Studie 1 - Incidence a mortalita PTLD	88
5.11.2.	Studie 2 - Laboratorní metody pro detekci gamapatie po TX.....	89
5.11.3.	Studie 3 – Výskyt gamapatie po TX, analýza asociace mezi GP a PTLD.....	89
	Závěr	91
	Bibliografie	93
	Seznam použitých zkratk	106
	Seznam příloh	109

Úvod

Transplantace (TX) jako léčebná metoda terminálního selhání orgánů je využívána s velmi dobrými výsledky u stoupajícího počtu a stále širšího spektra pacientů. Tento pozitivní trend je provázen novými výzvami, které s sebou přináší v podstatě doživotní péče o tyto pacienty. Zatímco z krátkodobého hlediska (jednorocní přežívání štěpů a transplantovaných pacientů) dochází k permanentnímu výraznému snižování potransplantační mortality, výsledky hodnocení po deseti až patnácti letech stagnují. Z hlediska dlouhodobé prognózy se v literatuře jako nejproblematictější dlouhodobě uvádějí kardiovaskulární, infekční a rejekční komplikace. Rejekce transplantovaného orgánu je velmi závažnou klinickou jednotkou, odpovídající za přibližně polovinu úmrtí v potransplantačním období. Díky rychle přibývajícím poznatkům o interakci imunitního systému hostitelského organismu s buňkami transplantované tkáně a nové generaci imunosupresiv však úspěšnost antirejekční terapie stoupá. Onemocnění kardiovaskulárního systému a infekční komplikace lze navzdory jejich klinické závažnosti v éře spolehlivých laboratorních a zobrazovacích metod a moderní farmakoterapie obecně hodnotit jako poměrně dobře diagnostikovatelné a léčitelné. Přežití pacientů po TX se tedy díky pokrokům v moderní medicíně výrazně prodlužuje, nezřídka i na několik desetiletí.

Významnou limitací dlouhodobé prognózy příjemců transplantátů se v posledních letech stávají onkologické komplikace. Podle několika posledních statistik je počet zemřelých příjemců transplantátů v důsledku nádorového onemocnění ještě vyšší než v důsledku kardiovaskulárních onemocnění [1] [2]. Je známo, že nejvyšší incidenci mají po TX kožní nádory. Jako druhá nejčastější malignita se uvádí potransplantační lymfoproliferativní onemocnění (PTLD, z anglického originálu posttransplantation lymphoproliferative disease), které je v porovnání s kožními nádory prognosticky často závažnější. Je též nutno zmínit, že v posledních letech je možné pozorovat trend zvyšování počtu pediatrických pacientů indikovaných k TX, u kterých je PTLD nejčastější onkologickou komplikací [3] [4]. Proto je pravděpodobné, že spolehlivá

diagnostika a včasná léčba PTLT bude v budoucnu významným faktorem určujícím úspěšnost transplantačního programu.

Efektivita terapie PTLT je přímo závislá na stadiu onemocnění, diagnostické nástroje umožňující časně odhalení onemocnění jsou proto nezbytné pro zlepšení prognózy pacientů s PTLT. Za optimální lze považovat screeningovou strategii, která by byla schopná identifikovat jedince se zvýšeným rizikem rozvoje PTLT a umožnila tak cílenou úpravu v potransplantačním režimu daného pacienta (například úpravou imunosupresivní terapie, zařazení pravidelných kontrol hematologem apod.). Zavedením takovéto strategie do klinické praxe, by bylo možné snížit riziko rozvoje PTLT, jednalo by se tedy o účinnou prevenci.

Při plošném využití u velkého počtu pacientů je z praktického hlediska nutné vzít do úvahy i dostupnost screeningových metod nejen ve specializovaných transplantačních centrech, ale i na regionální úrovni a v neposlední řadě co nejnižší zátěž pacienta. Tyto dva základní požadavky vylučují tradiční metody pro diagnostiku lymfoproliferativních onemocnění vyžadující biotický vzorek tkáně. Na druhé straně logickým kandidátem jsou biomarkery stanovitelné v periferní krvi nebo moči pacienta.

Pracoviště laboratorních metod Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) je součástí největšího transplantačního centra v České republice (ČR) a udržuje vysoké standardy kvality v laboratorní diagnostice. Tyto jedinečné podmínky byly předpokladem realizace studie zaměřené na identifikaci biomarkerů pro včasnou identifikaci příjemců transplantátů se zvýšeným rizikem rozvoje PTLT.

1. Současný stav poznání orgánových transplantací

Transplantace je indikována v případě terminálního selhání orgánu, kdy není dostupná jiná účinná terapeutická metoda. Je zřejmé, že v řadě případů jde o život zachraňující výkon. Na druhé straně je však přítomnost imunologicky cizí tkáně v organismu spojena s rizikem její rejekce a destrukce imunitním systémem hostitele. Poměrně agresivní imunosupresivní terapie je proto nezbytnou součástí potransplantačního období, která však nese řadu rizik a závažných komplikací.

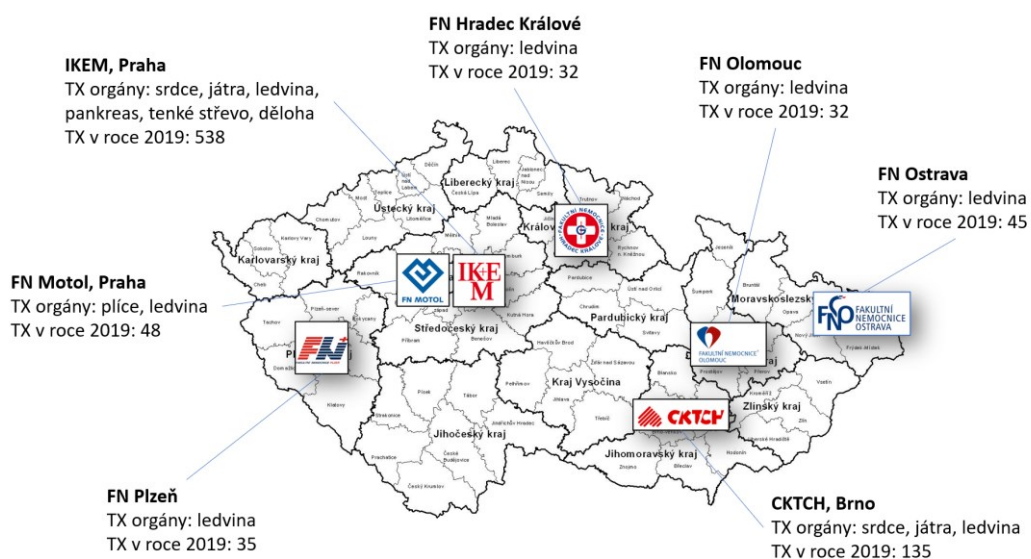
1.1. Transplantační program v České republice

Za počátek orgánových TX v České republice lze považovat rok 1961, kdy byla v tehdejší Československu provedena první transplantace ledviny ve Fakultní nemocnici Hradci Králové 16-leté nemocné, která přišla o svou solitární polycystickou ledvinu. V roce 1983 byla ve svatoanenské nemocnici v Brně provedena první transplantace jater. O rok později byl v ČR zahájen program ortotopické transplantace srdce a v roce 1997 byla provedena první transplantace plic. V roce 2008 provedl IKEM první kombinovanou TX Langerhansových ostrůvků a ledviny. V roce 2014 byla v IKEM v Praze provedena první úspěšná tzv. multiviscerální transplantace a v roce 2016 první transplantace dělohy.

V ČR je v současnosti celkem 7 transplantačních center. Koordinační střediska jednotlivých center spolupracují s dárcovskými nemocnicemi v daném regionu a zodpovídají za zařazení nemocných do čekací listiny. Specializovaná ambulantní a lůžková pracoviště následně zabezpečují péči o žijící dárce a příjemce orgánů. Největší transplantační centrum – IKEM provádí transplantace srdce, jater, ledvin, pankreatu a multiviscerální transplantace. Přehled všech center včetně typu a počtu transplantovaných orgánů v roce 2019 znázorňuje Obrázek 1. Kromě činnosti uvedených center existuje také mezinárodní spolupráce, například program párových výměn orgánů (Rakousko, Izrael).

Statistická data o transplantačním programu v ČR lze najít na stránkách Koordinačního střediska transplantací. V roce 2019 bylo na čekací listinu v ČR zařazeno 1144 pacientů, provedeno bylo 962 orgánových transplantací, z toho 610 ledviny, 74 srdce, 187 jater, 42 plic, 48 pankreatu a Langerhansových ostrůvků a 1 transplantace tenkého střeva [5].

Obrázek 1 Přehled transplantačních center a transplantačních výkonů v ČR



Podle [5], zdroj ilustrativních obrázků: www.google.com

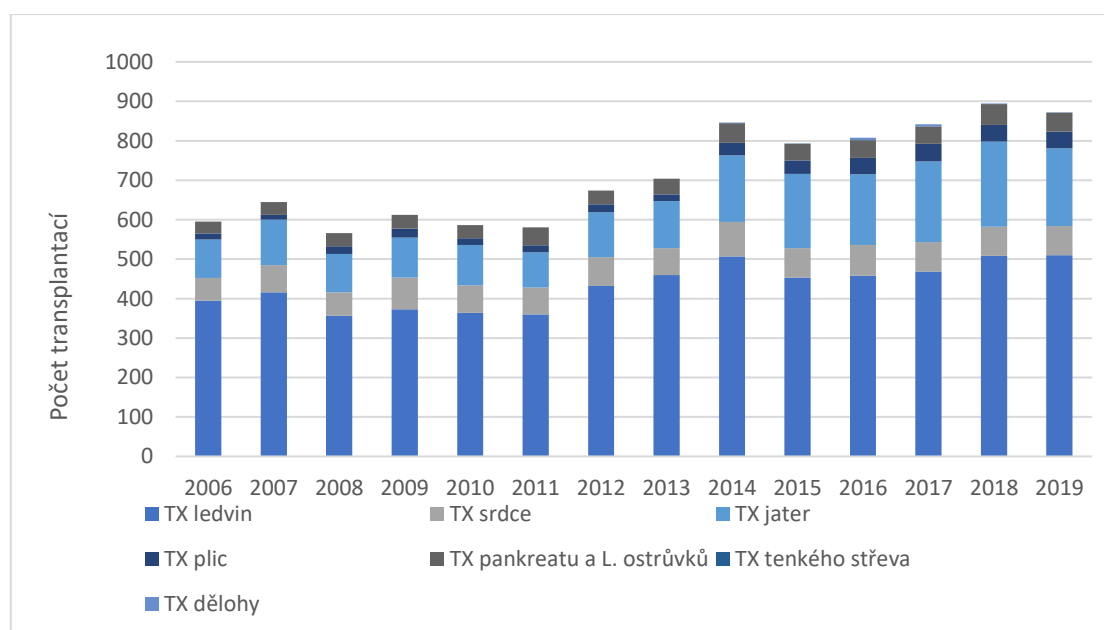
Nejdůležitějším údajem, který charakterizuje výsledky transplantací, je tzv. přežívání transplantovaných štěpů a pacientů za určité časové období. ČR patří mezi země s pokročilým transplantačním programem s výsledky odpovídajícími současným poznatkům, které jsou srovnatelné s významnými centry v zahraničí.

Roční přežívání pacientů po transplantaci ledviny dosahuje 99,1 %, 5 let od transplantace se dožívá 95,8 % pacientů. V případě příjemců transplantátu srdce se první rok od transplantace dožije 80-90 % pacientů, 5 let přežívá přibližně 70 %. Pět let po transplantaci se dále v ČR dožije téměř 70 % pacientů s jaterním štěpem a 43-48 % pacientů s transplantátem plic [6] [7]. Přežití pacientů 20 let po TX se pohybuje v rozmezí 20-40 %, výjimku tvoří TX plic s 3% přežitím [8]. Je zřejmé, že vzhledem k úspěšnosti

transplantačního programu (Graf 1) pacientů dlouhodobě sledovaných po TX v ČR přibývá [5].

Péče o tyto pacienty je spojená s řadou závažných komplikací, často v důsledku nežádoucích účinků imunosupresivní terapie. Klíčem k efektivní prevenci a terapii potransplantačních komplikací a komorbidit je jejich včasná diagnostika, nebo optimálně identifikace ve stadiu rizika. Soustavné, systematické hledání a praktická aplikace spolehlivých diagnostických a screeningových nástrojů (laboratorních, nebo jiných) jsou proto nezbytnými předpoklady kvalitní potransplantační péče a dlouhodobého přežívání příjemců transplantátů.

Graf 1 Počet TX realizovaných v ČR od roku 2006 podle typu orgánu.



1.2. Onkologické komplikace po orgánových transplantacích

Jednou z nejvýznamnějších a nejzávažnějších komplikací potransplantačního období je zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění oproti netransplantované populaci. Mezi rizikové faktory patří především imunosupresivní terapie, nejvyšší riziko bylo zaznamenáno u malignit s přímou asociací s onkogenními viry, konkrétně lidským papilomavirem (HPV), virem Epstein-Barrové (EBV) a lidským herpesvirem 8 (HHV 8).

Předpokládá se, že patofyziologickým podkladem je narušení imunosurveillance v důsledku imunosuprese, což vede nejen ke snížení antivirové imunity, ale navíc umožňuje přežití a proliferaci transformovaných buněk. U vzniklých malignit se také zvyšuje metastatický potenciál cestou vaskulární, lymfatické či perineurální invaze [1] [9].

Podle různých studií se kumulativní incidence malignit po orgánových transplantacích pohybuje mezi 9-10 % v prvních 10 letech od TX a mezi 10-27 % 20 let od TX v závislosti zejména na typu transplantovaného orgánu a typu a délce imunosupresivní léčby [10] [11]. Riziko vzniku nádoru je odhadováno obecně jako 2- až 7-násobně vyšší v porovnání s běžnou populací, přičemž častěji jsou postiženi příjemci transplantátu srdce a plic, zatímco pro příjemce transplantátu jater a ledvin je riziko nižší [12] [13]. V roce 2011 byla Engelsem et al. provedena rozsáhlá studie využívající data ze Scientific Registry of Transplant Recipients, který obsahuje data o všech příjemcích transplantátů ve Spojených státech amerických od roku 1986. Výstupy jsou založeny na velmi robustních datech, do studie bylo zahrnuto 175 732 pacientů, výsledky byly publikovány ve formě tzv. standardized incidence ratios (SIR) s příslušným konfidenčním intervalem (CI). Autoři zjistili dvojnásobně zvýšené riziko onkologického onemocnění v porovnání s netransplantovanou populací (SIR 2,1; 95% CI 2,06-2,14). Nejvyšší nárůst rizika byl zaznamenán pro Kaposiho sarkom (SIR 61,46), kožní nádory (SIR 13,85), nádory jater (SIR 11,56) a non-hodgkinské lymfomy (SIR 7,54) [14].

Nejčastějším typem malignity v potransplantačním období jsou nemelanomové nádory kůže [13] [15]. Podle četnosti dále následují PTLN, nádory plic, urogenitálního a gastrointestinálního traktu [9] [14] [16] [17].

1.3. Potransplantační lymfoproliferace

Potransplantační lymfoproliferativní onemocnění zahrnují heterogenní skupinu lymfoidních a plazmocytárních proliferací, které se objevují u pacientů po TX solidního orgánu nebo TX hematopoetických kmenových buněk. Ve většině případů vycházejí z buněk hostitele, pouze po alogenní transplantaci kostní dřeně mohou být dárcovského původu.

1.3.1. Incidence a mortalita PTLD

PTLD je uváděná jako druhá nejčastější nádorová komplikace po transplantaci solidních orgánů u dospělých a nejčastější u dětí [3] [18]. Kumulativní incidence PTLD u příjemců transplantátu se pohybuje v rozmezí od 1 do 20 % v závislosti od transplantovaného orgánu a věku příjemce, nejvyšší výskyt byl popsán u příjemců transplantátu srdce (1,0 - 6,3 %), plic (4,2 – 10 %) a tenkého střeva (20 %), nejnižší výskyt po transplantaci ledviny (1,0 – 2,3 %) a jater (1,0 - 2,8 %) [18] [19] [20].

Jiným nástrojem vyjádření výskytu nádorových onemocnění (který je na věku závislý) v populaci je metoda tzv. nepřímé standardizace. Tento způsob využívá srovnávacího indexu SIR, který porovnává skutečný počet nemocných s hypotetickým počtem ve standardní populaci. Vzhledem k tomu že zohledňuje věkovou strukturu jednotlivých populací, lze uvedenou metodiku považovat za nejpřesnější. Populační kohortové studie odhadují pro pacienty po orgánové transplantaci přibližně 7,5- až 10-násobně vyšší riziko pro lymfoproliferace non-Hodgkinova typu (NHL) a 3,6-násobně vyšší pro Hodgkinův lymfom (HL) [14] [21]. Výskyt PTLD je nejvyšší v prvním roce po transplantaci, v následujícím období klesá a opět se výrazně zvyšuje od 4-5 roku po transplantaci [22] [23]. Podle Opelze et al. je incidence PTLD během prvních deseti let po příjmu transplantátu 11,8-násobně vyšší ve srovnání s běžnou populací, přičemž retransplantace je spojena s ještě vyšším rizikem (relative risk 12,1) [24].

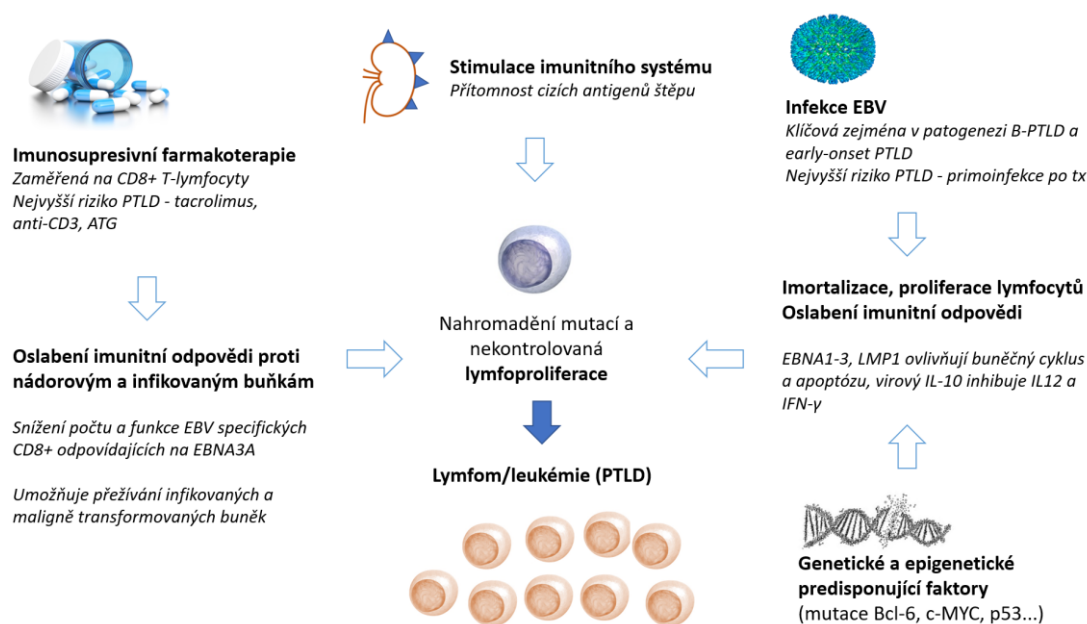
I přestože v diagnostice i léčbě PTLD byly bezpochyby zaznamenány úspěchy, řada studií nadále vykazuje poměrně vysokou míru úmrtnosti. Studie staršího data uváděly jednorocní mortalitu na úrovni 40-55 % [24] [25]. V současnosti se více autorů shoduje, že aktuální mortalita je přibližně poloviční. Wasson et al. v roce 2006 zaznamenal mortalitu 26,6 % pro příjemce transplantátu srdce a ledviny [26], jiná studie dětských pacientů po transplantaci ledvin zaznamenala 25% úmrtnost související s PTLD [4]. Koff uvádí výrazně odlišnou mortalitu pro jednotlivé typy PTLD. Celkové dvouleté přežívání je nejnižší u monomorfních T – buněčných PTLD (35 %), lepší prognózu mají monomorfní B – buněčné PTLD (60,6 %, bez rozdílu mezi podskupinami), polymorfní

PTLD (70 %) a Hodgkinův lymfom (76,5 %) [27]. V případě diagnózy PTLD v časném stadiu je přežití pacientů vysoké (až 89 %) [28] [29].

1.3.2. Patogeneze a rizikové faktory PTLD

Určit individuální riziko vzniku PLTD je obtížné. Liší se dle typu transplantovaného orgánu, věku pacienta, délky od transplantace, nebo použití jednotlivých imunosupresiv. Předpokládá se, že mezi dva nejdůležitější patogenetické mechanismy při vzniku PTLD patří snížený imunitní dohled a nerovnováha mezi interakcí a regulací T a B lymfocytů. Dalším významným patogenetickým faktorem je infekce viry, které mají onkogenní potenciál, zejména virus EBV. (Obrázek 2).

Obrázek 2 Hlavní patogenetické mechanismy vzniku PTLD



Podle: [19] [30] [18], zdroj ilustrativních obrázků: www.google.com

1.3.2.1. Imunosupresivní terapie

Pacienti podstupující transplantaci musí být dlouhodobě resp. doživotně léčeni imunosupresivy. Tyto léky mají různé mechanismy účinku, ale ve všeobecnosti je

výsledkem jejich působení narušení interakce a/nebo stimulace antigen prezentujících buněk, nebo T – lymfocytů. Imunosupresivní léčba sehrává v procesu onkogeneze klíčovou roli [26]. Všechny typy imunosupresivních léků umožňují maligní proliferaci tím, že tlumí imunitní systém v přirozených eliminačních mechanismech buněk s poškozeným genomem a usnadňují jejich přežívání v organismu. V současné transplantační medicíně se využívají tři hlavní strategie imunosupresivní terapie, známé jako indukční, udržovací a antirejekční režim.

Indukční režim je nejčastěji vyhrazen pro situace, kdy je vysoké riziko rejekce transplantované tkáně krátce po transplantaci. Je využíván například u výkonů, kde dochází k přenosu velkého objemu dárcovské lymfogenní tkáně (transplantace srdce, plic, střeva). Typická je kombinace více léčiv, nejčastěji antagonisty receptoru pro interleukin-2 (IL-2), polyklonální protilátky (např. anti-thymocytární globulin), nebo monoklonální protilátky proti T – lymfocytům (např. anti-CD52 – alemtuzumab, anti-CD3 – muromonab).

Udržovací režim je využíván pro dlouhodobou imunosupresi při stabilizovaném stavu štěpu a provází pacienta většinou doživotně. Často zahrnuje dva nebo tři léky v kombinaci, v menším procentu případů se jedná o monoterapii. Mezi používaná imunosupresiva patří inhibitory kalcineurinu (cyklosporin nebo takrolimus), antimetabolity (azathioprin, mykofenolát mofetil nebo mykofenolát sodný), kortikosteroidy (prednison) a / nebo tzv. mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitory (sirolimus nebo everolimus).

Vysoká incidence malignit po transplantaci úzce souvisí nejen s typem použité imunosuprese, ale také s délkou imunosupresivní terapie. Mezi nejčastěji používaná potransplantační imunosupresiva patří kalcineurinové inhibitory, antimetabolity, mTOR inhibitory, kortikosteroidy, anti-lymfocytární protilátky a další.

Kalcineurinové inhibitory

Inhibitory kalcineurinu (CNI) patří mezi nejčastěji používaná imunosupresiva již od osmdesátých let. Do této skupin patří preparáty s účinnou látkou cyklosporinem, nebo takrolimem. CNI jsou lipofilní látky a mechanismus jejich účinku je velmi podobný. Po vstupu do lymfocytů se CNI vážou na svůj imunoofilin (cyklosporin na cyklofilin a takrolimus na FK506-binding protein), se kterým vytváří heterodimerický komplex. Tento komplex inhibuje aktivitu kalcium-kalmodulin dependentní fosfatázy kalcineurinu, což vede k zablokování defosforylace a translokace nukleárního faktoru aktivujícího T – lymfocyty (NFAT) do jádra. NFAT je klíčovým faktorem aktivace T – lymfocytů a důsledkem jeho zablokování je snížení syntézy a uvolnění prozánětlivých cytokinů interleukinu 4 (IL-4) a interferonu γ (IFN γ) [31].

Vedle protizánětlivého efektu však CNI způsobují i zvýšení produkce cytokinu transforming growth factor β -1 (TGF β -1), který mimo jiné stimuluje angiogenezi a metastatický potenciál nádorových buněk [1] [32]. Z dalších cytokinů byl přímý kancerogenní účinek prokázán u interleukinu 6 (IL-6) a interleukinu 10 (IL-10). Oba tyto cytokiny se ve zvýšené koncentraci vyskytovaly v séru pacientů s diagnózou PTLD [33]. Imunosupresivní terapie CNI je spojena se zvýšenou incidencí PTLD, přičemž riziko lymfoproliferace je při podávání takrolimu 5- až 6-násobně vyšší v porovnání s cyklosporinem [18].

Mezi další závažné nežádoucí účinky CNI patří arteriální hypertenze (méně u takrolimu), nefrotoxicita (akutní i chronická) a neurotoxicita (bolesti hlavy, nespavost, křeče). Z dlouhodobého hlediska je nutné počítat s dyslipoproteinémiemi, diabetogenním efektem (méně u cyklosporinu), hypomagnezémií a hyperkalémií [31].

Dávkování by také mělo zohlednit četné lékové a potravinové interakce, protože CNI jsou inhibitory (cyklosporin) i substráty (cyklosporin i takrolimus) cytochromu P450 3A4 a P-glykoproteinu.

Antimetabolity

Azathioprin je purinový analog, jehož metabolity se inkorporují do buněčné deoxyribonukleové kyseliny (DNA), čímž inhibují syntézu nukleotidů a interferují s metabolismem ribonukleové kyseliny (RNA). Z důvodu kancerogenního a myelosupresivního efektu je jeho využití v transplantační medicíně velmi omezené.

Mykofenolát mofetil (MMF) a mykofenolát sodný jsou po vstupu do organismu metabolizovány na aktivní formu – kyselinu mykofenolovou. Mechanismus jejího imunosupresivního účinku je založen na snížení proliferace aktivních T – lymfocytů. Mykofenolát nekompetitivně inhibuje typ II inosin-monofosfát dehydrogenázy, enzymu nezbytného pro *de novo* syntézu nukleotidů a následně tedy i syntézu DNA. Farmakokinetika mykofenolátu je výrazně ovlivněna enterohepatální cirkulací. Mezi časté lékové interakce patří kompetice při renální eliminaci s antivirovou terapií. Mezi nežádoucí účinky patří nauzea, zvracení, průjem a myelosuprese [31].

Onkogenní potenciál MMF zůstává poněkud sporný. Podle některých autorů je MMF asociován se zvýšenou invazivitou nádorových buněk [34], někteří naopak popisují možný antionkogenní efekt MMF cestou ovlivnění adhezivních molekul při nádorové diseminaci [35]. Rozsáhlá studie provedená Funchem v roce 2005 nepotvrdila signifikantní rozdíl ve výskytu PTLD u příjemců transplantace ledvin při léčbě trojkombinací imunosupresiv bez ohledu na to, zda kombinace obsahovala MMF či nikoli [36]. Některé studie naopak prokázaly nižší riziko výskytu PTLD při srovnání s jinými imunosupresivními režimy [1] [36] [37]. Obecně lze riziko PTLD spojené s podáváním mykofenolátu považovat za velmi nízké [27].

Kortikosteroidy

Jsou součástí indukční, udržovací i antirejekční imunosupresivní léčby po transplantaci solidních orgánů. Po přechodu buněčnou membránou se kortikosteroidy vážou na glukokortikoidní cytoplazmatické receptory. Následně je prostřednictvím nukleárního faktoru kappa-B (NFκB) ovlivněna exprese genů pro syntézu velkého

množství prozánětlivých cytokinů [38] [39]. Imunosupresivní efekt kortikosteroidů je tedy necílený a zahrnuje ovlivnění funkce, proliferace i migrace všech typů imunitních buněk, včetně T – lymfocytů, antigen-prezentujících buněk a makrofágů.

Mezi četné nežádoucí účinky patří obezita, diabetes mellitus, arteriální hypertenze, zhoršené hojení ran, osteoporóza, glaukom a další.

Kortikosteroidy mohou přímými či nepřímými mechanismy zvýšit riziko výskytu maligního onemocnění. Podle některých studií je vedlejším efektem kortikosteroidní terapie zvýšení rezistence nádorových buněk k apoptóze [38] [40], inaktivace B – lymfocytů a T – lymfocytů včetně aktivovaných natural killer (NK) buněk [41], a snížení exprese molekul hlavního histokompatibilního komplexu I. třídy. Již malé dávky mohou vést k výraznému snížení imunitního protinádorového dohledu [1] [39] [42]. Specifická asociace mezi výskytem PTLD a kortikosteroidní terapií nebyla jasně prokázána.

mTOR inhibitory

V praxi se z této skupiny léčiv využívá sirolimus a jeho analog everolimus. Sirolimus je antimykotikum s chemickou strukturou podobnou takrolimu. Stejně jako takrolimus se váže na imunofilin FK506, aktivitu kalcineurinu následně neovlivňuje. Dimer sirolimus-FK506 namísto toho inhibuje serinovou/threoninovou kinázu mTOR, která je klíčová pro přechod T – lymfocytu z G0 do S fáze buněčného cyklu. Výsledkem je snížená proliferace lymfocytů na podnět IL-2. Mechanismus účinku everolimu je totožný.

Mezi nežádoucí účinky patří kombinovaná dyslipoproteinémie, anémie a ulcerace v dutině ústní. Z infekcí může být závažnou komplikací častější výskyt intersticiálních pneumonií [31].

Antionkogenní účinek mTOR inhibitorů je založený na blokaci vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) [43] [44] [45]. Zatím největší publikovanou studií prokazující onkoprotektivní účinky sirolimu je studie „Convert.“ Bylo prokázáno, že u pacientů převedených z léčby CNI na mTOR byla incidence nádorových onemocnění

po 24 měsících sledování 3-násobně nižší než u těch, kteří byli léčeni CNI [1] [46]. Léčba mTOR inhibitory by měla být zvažována vždy, pokud byl u nemocného po transplantaci zjištěn solidní nádor, kožní nádor či lymfoproliferativní onemocnění. Jejich podávání může přispět k profylaxi i úspěšné terapii PTLT [18].

Anti-lymfocytární protilátky

Tato skupina imunosupresiv je v transplantační medicíně používána poměrně krátce. Patří sem polyklonální protilátky (anti-thymocytární globulin – ATG) a monoklonální protilátky (anti-CD3 – Muromonab, anti-CD25 – Daklizumab, anti-CD52 – Alemtuzumab, anti-CD20 – Rituximab a anti-25 – Basiliximab). Využívají se především v indukčních režimech (ATG, anti-CD3, anti-CD52) u příjemců ve vysokém imunologickém riziku, nebo v antirejekční terapii při rezistenci na kortikosteroidy (anti-CD25, anti-CD3) [47]. Se zvýšeným rizikem PTLT je asociováno podávání ATG a anti-CD3. Anti-CD52 má ve vztahu k PTLT protektivní efekt [27].

Z předchozího přehledu je patrné, že ne všechna imunosupresiva jsou spojena se zvýšeným rizikem PTLT. Obecně lze říci, že nejvyšší incidence PTLT byla zaznamenána u preparátů se selektivním supresivním účinkem na T – lymfocyty a minimálním ovlivněním B – lymfocytů (takrolimus, ATG, anti-CD3). Na druhé straně MMF, anti-CD52, nebo mTOR inhibitory lze považovat z hlediska rozvoje PTLT za relativně bezpečné [18] [27].

1.3.2.2. EBV infekce

Převážná většina případů PTLT (50-75 %) je asociována s infekcí EBV [48] [18]. EBV patří do čeledi *Herpesviridae*, a předpokládá se, že promořenost dospělé populace je přibližně 95 %.

U imunokompetentního jedince se EBV v organismu chová jako typická herpetická infekce. Po přenosu na dosud neinfikovaného hostitele se virus v infikované buňce hostitele amplifikuje, obvykle v buňkách sliznice a B – lymfocytech orofaryngu.

Následně virus napadá další B – lymfocyty, dochází k jejich transformaci a imortalizaci s parciálním EBV genomem mechanismem blokace apoptotických signálních drah (Fas, tumor necrosis factor-like ligand), amplifikací Bcl-2 a aktivací NFκB prostřednictvím latentních proteinů EBNA 1-3 a LMP 1. Virus zároveň exprimuje sadu genů, jejichž transkripce a translace vzniká virusový interleukin-10 (blokuje uvolnění IL-12 a IFN-γ a následnou aktivaci T – lymfocytů), solubilní receptor blokující účinek CSF-1 (snížení produkce cytokinů v monocitech) a skupinu latentních membránových proteinů LMP 1 a 2, které zabrání eliminaci viru imunitním systémem [19] [30] [49] [50]. Po celou dobu života hostitele tak EBV perzistuje v paměťovém B – lymfocytu jako asymptomatická latentní infekce s občasnou reaktivací. Při udržení EBV v latentní asymptomatické formě hrají hlavní roli NK buňky a EBV specifické cytotoxické CD8+ T – lymfocyty [51] [52].

Latentní EBV infekce je výsledkem rovnováhy mezi virovou replikací a obrannými schopnostmi organismu, s možností reaktivace infekce při imunitním oslabení. U EBV séropozitivních pacientů po transplantaci solidních orgánů umožní defekt specifické imunitní odpovědi na EBV reaktivaci viru a nekontrolovanou proliferaci latentně infikovaných B – lymfocytů. EBV potencovaná lymfoproliferace a snížená schopnost T – lymfocytů rozpoznat a eliminovat buňky infikované EBV v důsledku imunosupresivní léčby (zejména takrolimus, OKT3, ATG) vede k polyklonální proliferaci. Trvalá imunosuprese a současná stimulace imunitního systému cizími antigeny dárcovského štěpu umožňuje nekontrolovanou proliferaci a postupnou akumulaci mutací vedoucí k transformaci na monoklonální lymfom [49].

Je důležité zmínit, že nejvíce jsou ohroženi séronegovní příjemci transplantátů od séropozitivních dárců. Choquet uvádí, že až u 90 % EBV naivních pacientů se po transplantaci vyvine primoinfekce, která progreduje do PTLD přibližně v jedné třetině případů, většinou v 1. roce po transplantaci.

EBV genom je detekovatelný u více než 90 % nemocných s PTLD v prvním roce po transplantaci [18] [48]. Většina EBV-asociovaných PTLD jsou původem z B – lymfocytů, často se vyskytují extranodálně a liší se agresivitou klinických příznaků. Jsou

rozdílné histologicky i molekulárně – zahrnují vedle polyklonální proliferace B – lymfocytů (plazmatická hyperplazie) také polymorfní PTLD, ale zejména skutečně maligní klonální B – lymfoproliferace (difuzní velkobuněčný lymfom, Burkitt/Burkitt – like lymfom, Hodgkinův lymfom) [49].

V případě pozdější manifestace PTLD je až 45 % nemocných EBV negativních. EBV negativní PTLD (23 % všech PTLD) jsou specifickou skupinou, která je charakterizována pozdním nástupem onemocnění (4-5 let po transplantaci), nereaguje na redukci imunosuprese a má špatnou prognózu. Mechanismy, které způsobují EBV-negativní PTLD, nejsou dobře známy, dokonce se předpokládá, že by mohly mít i jinou patofyziologii [53] [19]. Negativita EBV je častá i u T – lymfocytárních PTLD (60-75 % případů) [18].

V recentní literatuře se uvádí dělení PTLD založené právě na době manifestace po transplantaci. Je známo, že incidence PTLD se v čase po transplantaci mění. Pík incidence je patrný v 1. roce, následovaný prudkým poklesem ve 2. a 3. roce a výrazným zvýšením ve 4. a 5. roce po transplantaci. Několik prací již prokázalo i odlišný charakter těchto dvou skupin onemocnění

- early onset PTLD (do 2 let od transplantace), které jsou spojeny s EBV a cytomegalovirovou (CMV) infekcí a nízkým věkem příjemce v době transplantace,
- late-onset PTLD, kde nebyla asociace s infekčními agens prokázána a spíš se vyskytují u osob ve vyšším věku. Jsou častěji monomorfní a svým charakterem i prognózou víc připomínají lymfoproliferativní onemocnění v netransplantované populaci [54] [55] [56] [57].

Studie souboru 156 740 příjemců transplantátů ledviny identifikovala rozdíly v rizikových faktorech pro early-onset a late onset PTLD (Tabulka 1). Riziko je vyjádřeno ve formě „hazard ratio“ (HR). Zajímavostí je zvýšená incidence early-onset PTLD v nízkém věku, kterou autoři vysvětlují větší pravděpodobností předtransplantační séronegativity v této skupině.

Tabulka 1 Základní charakteristiky early-onset a late-onset PTLD

Charakteristika	Early-onset PTLD	Late-onset PTLD
EBV sérostatus před TX	Séronegativní (HR 4,76)	Bez prokázané asociace
CMV sérostatus před TX	Séronegativní (HR 2,44)	Bez prokázané asociace
Typ PTLD	72,3 % B 4,2 % T 23,6 % neznámé	64,3 % B 9,7 % T 25,9 % neznámé
WHO klasifikace	48,2 % monomorfní 41,6 % polymorfní 10,2 % jiné	55,9 % monomorfní 31,4 % polymorfní 12,7 % jiné
Věk, pohlaví	Věk <20 let (HR 6,59) M/Ž pohlaví bez prokázané asociace	Muži (HR 1,23), věk <20 let (HR 2,98), věk >50 let (HR 1,29)
Lokalizace	Častěji v TX orgánu	Častěji extranodální

Podle [54] [56] [55] [57]

Primoinfekce EBV v terénu imunosupresivní terapie vede k zvýšené lymfoproliferaci a oslabený protinádorový imunitní dohled umožňuje snazší maligní transformaci EBV infikovaných lymfocytů [54].

1.3.2.3. Další rizikové faktory PTLD

Nízký věk pacientů (vyšší riziko u dětí), míra kompatibility v systému human leukocyte antigen (HLA) mezi dárce a příjemcem, akutní rejekční příhody a EBV séropozitivita štěpu, resp. dárce a séronegativita příjemce před transplantací jsou považovány za další rizikové faktory PTLD [14] [18] [27] [48].

1.3.3. Klasifikace PTLD

PTLD jsou podle poslední revize klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2016 děleny do čtyř hlavních kategorií (Tabulka 2) [58].

Časné léze se vyznačují polyklonální proliferací B – lymfocytů, bez známek maligní transformace. Objevují se převážně u EBV-séronegativních příjemců transplantátu časně po transplantaci. I když dochází v této kategorii ke spontánní regresi, v některých případech naopak dojde k progresi do jedné z dalších skupin PTLD s nepříznivou prognózou.

Polymorfní PTLD jsou charakterizovány polyklonálními nebo monoklonálními lymfoidními infiltráty s projevy maligní transformace, ale nesplňují všechna kritéria pro maligní B – nebo T – lymfomy.

Monomorfní PTLD, které jsou zastoupeny nejvíce (>70 % případů), charakterizuje monoklonální lymfoidní proliferace, která je typická pro maligní lymfom. Nejčastějším histologickým nálezem je difuzní velkobuněčný lymfom (DLBCL) [14] [18].

Poslední skupinu tvoří klasický lymfom Hodgkinova typu. Podle různých autorů má 85-95 % PTLD původ v B – lymfocytech a 5-15 % je asociovaných s T – lymfocyty [25] [18]. Zajímavým faktem je, že oblasti s vysokou prevalencí infekce lidským T-lymfotropním virem (např. dálný východ) jsou typické až 40% podílem T – asociovaných PTLD.

Tabulka 2 Klasifikace PTLD podle WHO z roku 2016

Kategorie	Charakteristika	Nález
Časné léze 5 % plasmocytární hyperplázie, hyperplázie podobná infekční mononukleóze, floridní folikulární hyperplázie	Postihují hlavně lymfoidní orgány (uzliny, tonzily) jsou obvykle polyklonální a mohou spontánně regredovat nebo odpovídají na snížení imunosuprese, resp. protivirovou terapii. Rozvoj polymorfní či monomorfní PTLD je možný.	Zachování základní architektiky tkáně. U plasmocytární hyperplázie plazmatické buňky, ojediněle EBV + imunoblasty. U PTLD podobné infekční mononukleóze predominantně imunoblasty, někdy buňky podobné RS buňkám, nebo plasmocytární diferenciaci.

Tabulka 2 – pokračování

Kategorie	Charakteristika	Nález
Polymorfní PTLD 15-20 %	Vzniká v souvislosti s imunosupresí po alogenních transplantacích <i>de novo</i> nebo progresí z časně léze. Lymfoproliferace je EBV – pozitivní a obvykle je oligoklonální či monoklonální. Někdy odpovídá na snížení imunosuprese, ale rozvoj monomorfní PTLD je běžný.	Setřelá architektonika tkáně, smíšená infiltrace malými a středně velkými lymfocyty, imunoblasty a plazmatickými buňkami. Může být přítomna nekróza, vysoká mitotická aktivita a nukleární atypie.
Monomorfní PTLD >70 % (další subtypy podle klasifikace lymfomů)	B – PTLD <ul style="list-style-type: none"> • DLBCL • Burkittův lymfom • Plasmocelulární myelom • Změny podobné plasmocytomu • Indolentní malé B – buněčné lymfomy vznikající u příjemců transplantátu nejsou zahrnuty mezi PTLD 	Destrukce architektoniky tkáně, maligní cytologické znaky. DLBCL je charakterizován imunoblasty, centroblasty nebo pleomorfní morfologií, Burkittův lymfom, monomorfními buňkami s výraznou apoptózou (obraz hvězdného nebe). Plasmocelulární léze je typická zralými plazmocyty.
	T – PTLD <ul style="list-style-type: none"> • Periferní T – lymfomy • Hepatosplenický T – lymfom • Jiné typy 	Destrukce tkáně, maligní cytolog. znaky. Široké spektrum morfologického vzezření dle typu T – lymfomu.
Hodgkinův lymfom < 5 %	Hodgkinův lymfom	RS nebo Hodgkinovy buňky na pozadí typickém pro klasický Hodgkinův lymfom.

1.3.4. Klinická manifestace PTLD

Klinické projevy u pacientů s PTLD jsou poněkud odlišné od netransplantované populace s lymfoproliferativním onemocněním. Typický obraz s lymfadenopatií a B symptomy je u PTLD kvůli časté extranodální lokalizaci vyjádřen jen v 10 % případů [18], častou lokalizací je gastrointestinální trakt a transplantovaný orgán [59]. V obou případech, jak lokalizované nebo diseminované formy PTLD, se jedná o nádory často agresivní, rychle progresivní a potenciálně život ohrožující. Klinická prezentace je velmi variabilní. Pozdní stadia jsou charakteristická selháním orgánů (renální, kardiální nebo jaterní insuficience), v časných stadiích může být pacient i zcela asymptomatický. Nejčastější jsou minimální příznaky zahrnující horečku a lymfadenopatii (Tabulka 3).

Tabulka 3 Nejčastější klinické příznaky PTLD

Symptom	Frekvence výskytu (%)
Horečka	57
Lymfadenopatie	38
Gastrointestinální symptomy	27
Infekční syndrom podobný mononukleóze	19
Plicní symptomy	15
Neurologické příznaky	13
Úbytek hmotnosti	9

Právě vzhledem k nízké specifitě příznaků (projevy jsou podobné častým infekcím v potransplantačním období) je nesmírně důležitá jistá míra klinické ostražitosti při přítomnosti některého ze zmiňovaných symptomů, a to zejména v případě současně rostoucí virové nálože EBV [18] [48] [60] [61] [62].

1.3.5. Diagnostika PTLD

Vzhledem k tomu, že klinická symptomatologie PTLD je často necharakteristická a k diagnóze nestačí, jsou indikována zobrazovací a laboratorní vyšetření.

Definitivní diagnózu PTLD lze stanovit pouze na základě histopatologického vyšetření bioptického vzorku tkáně (uzlina, nebo často i extranodální tkáň). V současnosti se využívá klasifikační systém dle WHO, jednotlivé skupiny PTLD jsou charakterizovány příslušným specifickým nálezem (viz výše). Součástí diagnostiky je klasické morfologické vyšetření (histologický obraz buněk a architektiky tkáně), imunohistochemické a imunofenotypizační vyšetření (bližší určení typu PTLD, detekce restrikce lehkých řetězců, stanovení prognózy), in-situ hybridizační metoda EBER-ISH (určení přítomnosti EBV v preparátu) a molekulárně-biologické metody (posouzení klonality a detekce specifických translokací).

Ze zobrazovacích metod se uplatňuje zejména počítačová tomografie (CT) hrudníku, břicha a pánve, která je nezbytná pro staging onemocnění. V indikovaných případech lze využít pozitronovou emisní tomografii/CT (PET/CT), nebo zobrazení pomocí magnetické rezonance (MRI). Při podezření na postižení centrálního nervového systému je doporučeno provedení lumbální punkce s rutinním hodnocením mozkomíšního moku a vyšetřením na přítomnost maligních buněk. Součástí vyšetřovacího procesu je vždy zhodnocení funkce transplantovaného orgánu.

1.3.6. Screening a identifikace osob v riziku rozvoje PTLD

Vzhledem ke značné incidenci a vysoké mortalitě zejména v pozdní fázi onemocnění byla již provedena řada studií s cílem najít vhodný marker časného stadia PTLD. Je zřejmé, že kandidátní metoda musí kromě požadované senzitivity a specifčnosti splňovat i praktická kritéria pro použitelnost v rutinní potransplantační péči. Tato podmínka diskvalifikuje metody využívané pro diagnostiku PTLD z bioptického vzorku tkáně. V praxi přicházejí do úvahy pouze metody založené na vyšetření periferní krve.

Vyšetření EBV DNA v periferní krvi

Nejvíce pozornosti bylo zatím věnováno myšlence monitorování virové nálože EBV v periferní krvi pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Choquet uvádí, že

přítomnost EBV DNA v periferní krvi je asociována s následným rozvojem PTLD a lze ji použít pro predikci rizika [48]. Literatura však obsahuje poměrně rozporné údaje týkající se screeningu PTLD pomocí metod PCR pro detekci virové DNA, případně asociace PTLD a přítomnosti EBV DNA v periferní krvi. [20] [63] [64] [65]. Četná omezení využití vyšetření EBV DNA pro diagnostiku PTLD zahrnují nedostatečnou senzitivitu rezultující ze značného podílu EBV-negativních pacientů (23 % všech PTLD, 40 % T – lymfocytárních PTLD a 45 % late-onset PTLD) [18] [19] [53]. Negativní EBV DNA v periferní krvi proto nevylučuje přítomnost PTLD [66]. V praxi je nutné počítat i s chybějící standardizací. Průkaz EBV DNA pomocí PCR se provádí v různých laboratořích různými metodami, často s nesrovnatelnými výsledky. Dalším problémem této metody je, že pro kvantitu EBV DNA dosud neexistuje žádná prahová hodnota rizika rozvoje PTLD.

Britská doporučení pro diagnostiku PTLD sumarizují problematiku pravidelného sledování virové nálože a sérologie EBV u pacientů po transplantaci následovně:

- Příjemci transplantátů s rizikem primoinfekce EBV (séronegativní příjemce, séropozitivní dárce) by měli být vždy důsledněji sledováni, zejména v 1. roce po transplantaci.
- Rutinní sledování virové nálože EBV není možné použít pro screening PTLD (třída doporučení B, úroveň 3).

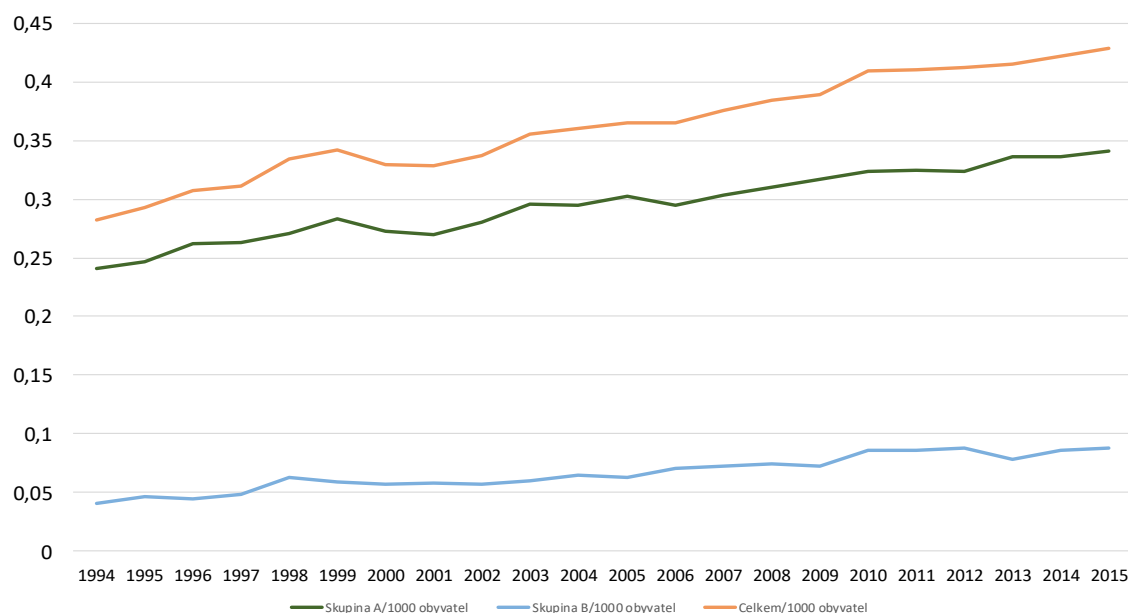
Dysgamaglobulinémie

Dysgamaglobulinémie neboli gamapatie (GP) je definována jako přítomnost kvantitativně a/nebo kvalitativně abnormálního imunoglobulinu, nebo jeho části v krvi nebo moči pacienta. Klasické dělení je založeno na kvalitativním charakteru nálezu, rozlišujeme monoklonální, oligoklonální a polyklonální GP. U netransplantované populace je jejich přítomnost spojena s maligními (lymfoproliferativní onemocnění) i benigními onemocněními (infekční, nebo autoimunitní onemocnění, hepatopatie).

V diagnostice lymfoproliferativních onemocnění se nejčastěji využívá detekce monoklonální GP, která typicky provází plazmocelulární neoplázie charakteru mnohočetného myelomu, nebo solitárního plazmocytomu. Gamapatie typu nadprodukce volných lehkých řetězců imunoglobulinů (FLC) ale provází i řadu neplazmocelulárních lymfoproliferací s frekvencí 5-77 % v závislosti na typu (nejvyšší pro mantle cell lymfom a chronickou lymfocytární leukémii, nejnižší pro Hodgkinův lymfom). Koncentrace FLC se navíc používá ke stanovení prognózy a monitoraci terapie u plazmocelulárních i neplazmocelulárních lymfoproliferací [67] [68] [69] [70] [71] [72] [73] [74].

Analýza dat z Národního onkologického registru Ústavu zdravotnických informací a statistik ČR (NOR ÚZIS) ukazuje, že podíl nemocí, které mohou být provázeny abnormalitami imunoglobulinů (skupina A) se v běžné populaci stabilně meziročně zvyšuje (Graf 2). Použití metod pro detekci GP pro zvýšení jejich zachytu tedy má své opodstatnění.

Graf 2 Vývoj počtu novotvarů mizní a krvetvorné tkáně v letech 1994-2015. Data jsou přepočtena na 1000 obyvatel ČR v daném roce. Skupina A reprezentuje nemoci, které mohou být provázeny abnormalitami imunoglobulinů.



Data o počtu novotvarů mizní a krvetvorné tkáně (dg. C81-C96) byly převzaty z NOR ÚZIS
Data o počtu obyvatel ČR byly převzaty z databáze Českého statistického úřadu (Přístup 02/01/2019)

Laboratorní detekce GP se v současné době opírá o dva druhy metod. Konvenční metody zahrnují gelovou elektroforézu s denzitometrickou kvantifikací a imunofixaci proteinů v séru a v moči. Elektroforéza sérových bílkovin (SPE) se provádí jako vyšetření první linie, její limit detekce pro monoklonální imunoglobuliny je na úrovni cca 1,0 g/l. Imunofixační elektroforéza bílkovin séra (SIFE) umožňuje pomocí antisér proti těžkým a lehkým řetězcům určit třídu (G, A, M, případně D, E) a typ lehkého řetězce (κ a λ) monoklonálního imunoglobulinu. Imunofixace se provádí pro typizaci GP a vzhledem k vyšší citlivosti (limit detekce 0,2 g/l) jako test 1. linie při podezření na oligosekreční formy gamapatií. Při diagnostice GP z lehkých řetězců je indikována imunofixační elektroforéza bílkovin moči (UIFE). Tyto metody jsou dodnes považovány za zlatý standard diagnostiky gamapatií.

Novější metodou je stanovení koncentrace volných lehkých řetězců (SFLC) a párů těžkých / lehkých řetězců (SHLC) v séru. Princip stanovení SFLC je imunoturbidimetrický a využívá epitopy řetězců κ a λ , které jsou v intaktní molekule imunoglobulinu skryté. Vazba diagnostických protilátek proto probíhá jen s volnou (nevázanou) frakcí FLC s přístupnými epitopy. Stanovení SFLC lze využít pro diagnostiku monoklonálních gamapatií v kombinaci se SPE a SIFE. Hlavní přidanou hodnotou SFLC je detekce oligosekrečních a nonsekrečních forem mnohočetného myelomu, nemoci z lehkých řetězců a AL amyloidózy. Kromě toho lze SFLC využít pro odhad prognózy, patologický poměr κ / λ je spojen například se zvýšeným rizikem progresu monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) a „doutnajícího (z angl. smouldering)“ myelomu do mnohočetného myelomu. Z důvodu mnohem kratšího poločasu FLC v porovnání s intaktními imunoglobuliny je SFLC také vhodná ke sledování průběhu onemocnění a hodnocení odpovědi na léčbu [75]. Při interpretaci výsledku SFLC je nutné zohlednit biologické (infekce, srdeční a renální selhání) a analytické interference (polymerizace, nadbytek antigenu, nelinearita ředění) [76].

Stanovení SHLC je založené na vazbě diagnostických protilátek in vitro na spojovací (pantové) epitopy mezi těžkými a lehkými řetězci. Různé subtypy imunoglobulinů jsou

rozlišeny podle kombinace těžkého (alfa, delta, epsilon, gama, mí) a lehkého (κ a λ) řetězce (např. IgG κ , IgG λ , IgA κ , IgA λ , IgM κ , IgM λ) v jejich molekule. Pro klinickou interpretaci se používá poměr koncentrace jednotlivých subtypů (např. IgG κ / IgG λ , IgA κ / IgA λ atd.). Kromě stanovení koncentrace monoklonální komponenty v séru metoda umožňuje kvantifikovat stupeň potlačení polyklonálních imunoglobulinů nádorem (paraneoplastická imunoparéza). Vyšetření je vhodné pro kvantifikaci monoklonálních imunoglobulinů při komigraci s jinými proteiny plazmy na elektroforetickém gelu a hodnocení rozsahu imunoparézy, která má prognostickou hodnotu [75].

Dysgamaglobulinémie u transplantovaných pacientů

Potransplantační GP jsou po transplantaci solidních orgánu poměrně častým jevem. Vyskytují se u 10–25 % příjemců transplantátů, v závislosti na typu TX a použité metodě jejich detekce [77] [78] [79] [80] [81] [82] [83] [84] [85] [86] [87]. V souboru 1215 pacientů po transplantaci ledviny Soltero et al. prokázali, že 33 % GP po TX má tranzientní charakter [88].

Dosavadní výsledky naznačují jistou asociaci mezi PTLD a monoklonální GP v populaci transplantovaných, přičemž většina dat pochází ze studií na pacientech po TX ledvin. Přítomnost GP byla zjištěna v 50–86 % pacientů s PTLD [77] [80] [82] [85] [89] a je pravděpodobně rizikovým faktorem pro pozdější vznik PTLD (relative risk 65,3) [77]. Výsledky práce publikované Tsaiem et al. podporují hypotézu, že pacienti s monoklonální GP mají vyšší riziko PTLD a že provedení SPE je vhodná screeningová metoda ke včasnému zachytu PTLD [80]. Naproti tomu studie publikovaná Jimenez-Zepedou neprokázala progresi MGUS do PTLD a autoři zpochybňují klinický význam elektroforézy a imunofixace bílkovin séra u pacientů po transplantaci [79]. Pretransplantační gamapatie charakteru MGUS není spojena se zvýšeným rizikem PTLD, MGUS před transplantací proto není kontraindikací k TX [88] [79].

Většina dosud publikovaných prací je limitovaná zejména nedostatečnou velikostí nebo specifickým zaměřením studovaných souborů. K dispozici jsou převážně studie o

příjemcích transplantátu ledvin nebo jater, zatímco prací zabývajících se problematikou GP například u příjemců transplantátu srdce je omezené množství. Dalším omezením dosavadních studií je, že pro detekci GP byly ve většině případů použity výlučně klasické metody – SPE a SIFE. V současnosti je však mezinárodně doporučovaným postupem pro diagnostiku a monitoraci monoklonálních gamapatií kombinace SPE, SIFE a stanovení SFLC [90] [91].

Metoda SFLC je proto logickým kandidátem pro screening PTLD a v této indikaci již byla v omezeném rozsahu testována [84] [92] [93] [94] [95]. Studie provedená Engelsem prokázala asociaci mezi elevací FLC (polyklonální nebo monoklonální) a PTLD [92]. Dosud existuje jen velmi málo dostupných dat o dynamice změn FLC po transplantaci [84] [92], možnost využití SHLC pro detekci PTLD nebyla podrobněji zkoumána.

Potransplantační GP tedy zůstávají sice častým ale z hlediska klinického významu nejasným jevem. I když publikovaná data jsou poměrně heterogenní a při jejich interpretaci je nutné zohlednit výše zmíněné limitace, převážná část autorů se shoduje na tom, že vztah monoklonální GP a PTLD vyžaduje provedení dalšího výzkumu [77] [78] [79] [80] [81] [82] [83] [84] [87] [88] [89] [96] [97] [98] [99] [100] [101] [102] [103] [104]. Dosud neexistuje žádný odborný konsenzus pro využití metod pro detekci gamapatií v potransplantační péči.

1.3.7. Terapeutické postupy u pacientů s PTLD

Základem léčby je redukce dávky imunosupresivní terapie nebo substituce za preparáty s minimálními onkogenními účinky (např. mTOR inhibitory). Tato opatření někdy postačují k úplné regresi onemocnění [25]. V případě další progresy PTLD je indikována chemoterapie, využívá se protokol kombinující cyklofosamid, doxorubicin, vinkristin, prednison a nově i monoklonální protilátku anti-CD20 – rituximab. U lokalizovaných forem PTLD je možná chirurgická resekce, nebo radioterapie ložiska.

2. Cíle práce a pracovní hypotéza

V současné době jsou u transplantovaných pacientů v IKEM diagnostikovány více rozvinuté formy onemocnění a důsledný screening pacientů s rizikem rozvoje PTLD se neprovádí. Navíc se rutinní praxe pro diagnostiku PTLD v transplantacním centru IKEM mezi jednotlivými pracovišti výrazně liší. Mezi nejčastější indikace k hematologickému vyšetření patří příznaky orgánové dysfunkce (abnormality krevního obrazu, nefropatie, proteinurie, hyperkalcémie, osteopatie atd.), anebo nespecifické klinické příznaky (B – symptomy, ztráta hmotnosti, lymfadenopatie, dyspepsie). Všechny tyto symptomy jsou však spojeny s pozdním stadiem PTLD, nebo mohou být v polymorbidní transplantované populaci lehce přehlédnuty, a proto je vhodné posílit roli screeningových nástrojů pro identifikaci rizik nebo časných forem onemocnění.

Vzhledem k tomu, že IKEM disponuje unikátně velkým souborem pacientů sledovaných po různých typech orgánové transplantace, rozhodli jsme se provést studii aplikovanou na českou populaci příjemců transplantátu solidních orgánů, která by mohla poskytnout relevantní informace o vztahu PTLD-GP využitelné v klinické praxi při péči o tuto specifickou skupinu pacientů. Naším hlavním záměrem bylo vytvořit jednotný postup pro všechna pracoviště IKEM a zefektivnit diagnostiku a prevenci PTLD.

2.1. Cíle studie

1. Určit frekvenci a časovou distribuci výskytu monoklonálních gamapatií a PTLD u příjemců transplantátů solidních orgánů.
2. Porovnat incidenci lymfoproliferativních onemocnění v netransplantované populaci s incidencí PTLD.
3. Analyzovat longitudinální vývoj a dopad potransplantačních gamapatií a PTLD na morbiditu a mortalitu příjemců transplantátů solidních orgánů.
4. Verifikovat asociaci mezi monoklonální gamapatií v pre- i potransplantačním období a PTLD.

5. Identifikovat a analyzovat laboratorní markery časného stadia PTLD.
6. Posoudit diagnostickou výtežnost SPE, SIFE a SFLC pro detekci PTLD v potransplantačním období.
7. Využít získaná data a závěry k návrhu efektivní strategie diagnostiky PTLD.

2.2. Pracovní hypotéza

Důsledkem imunosupresivní terapie v potransplantačním období je dysregulace mezi jednotlivými složkami imunitního systému, zejména vztahu T a B lymfocytů. Odrazem této dysbalance může být jak klonální syntéza imunoglobulinů anebo FLC κ/λ , tak rozvoj PTLD.

Vzhledem k asociaci mezi MG a PTLD lze laboratorní průkaz MG využít pro časnou diagnostiku PTLD. Screening MG tak může představovat nejen jeden z výchozích bodů pátrání po riziku rozvoje PTLD, ale také základ nově navrženého vyšetřovacího algoritmu pro pacienty po transplantaci solidních orgánů.

3. Metodika

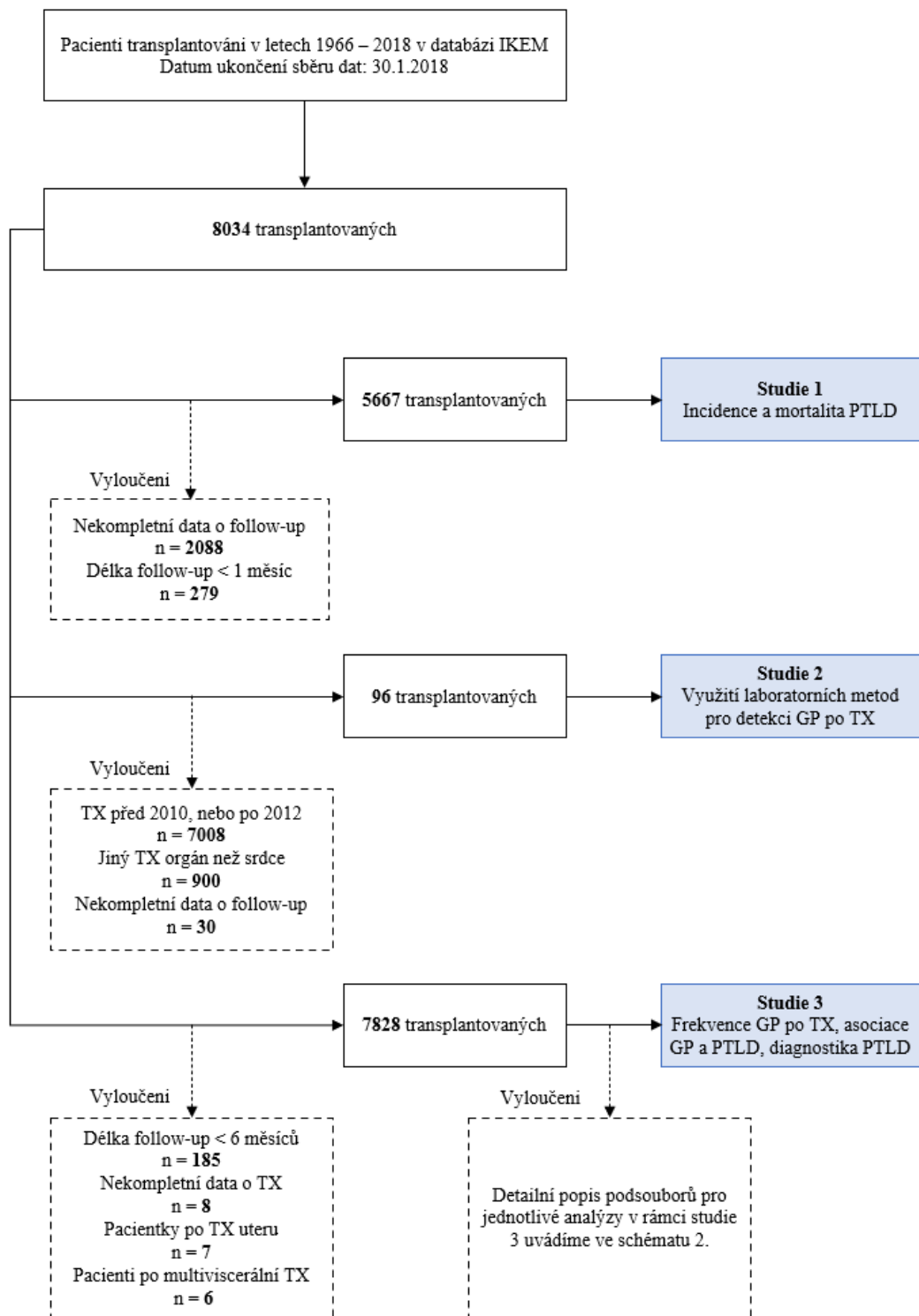
Vzhledem k poměrně značnému rozsahu byl výzkumný projekt časově i obsahově rozdělen do tří fází. Jako první byla provedena retrospektivní kohortová studie výskytu PTLD a mortality u pacientů s tímto onemocněním po TX solidních orgánů. Jako druhá byla realizována prospektivní studie pacientů sledovaných během dvou let po TX srdce. Záměrem bylo doplnění chybějících literárních dat o schopnosti různých laboratorních metod detekovat GP po TX. Ve třetí fázi jsme v retrospektivní kohortové studii analyzovali frekvence a časové distribuce GP v potransplantačním období a asociaci mezi výskytem GP a PTLD. Praktickým výstupem všech tří fází a hlavním cílem celého projektu bylo posouzení diagnostické výtěžnosti SPE a SIFE pro detekci PTLD a formulování algoritmu pro potransplantační péči.

Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas se všemi diagnostickými postupy použitými ve studii a studie byla schválena Etickou komisí IKEM pod číslem G14-08-26. Dále pacienti vyjádřili podpisem souhlas se všemi postupy a terapií v rámci informovaného souhlasu IKEM.

Nezbytným předpokladem projektu byly aktivity související s finančním pokrytím studie, přičemž se jednalo zejména o zajištění nezbytného laboratorního materiálu a vybavení. Simultánně s probíhající iniciální částí výzkumné činnosti jsme v reakci na výzvu Grantové agentury Univerzity Karlovy a Ministerstva zdravotnictví České republiky podali žádost o financování z výzkumných grantů. Podařilo se nám získat účelovou podporu Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky (číslo grantu AZV MZ 15-27579A), řešení grantu bylo úspěšně završeno v roce 2019.

Základní soubor, z kterého vychází všechny tři studie tvořilo 8034 pacientů transplantovaných v IKEM mezi lety 1966-2018. Sběr dat byl ukončen 30.1.2018. Specifické zaměření jednotlivých studií si vyžádalo použití rozdílných inkluzních kritérií a z toho vyplývajících rozdílných analyzovaných podsouborů. Charakteristiky podsouborů a sběr dat proto uvádíme jednotlivě pro každou z provedených studií. Pro lepší přehlednost uvádíme také schéma náboru pacientů (Schéma 1).

Schéma 1 Nábor pacientů pro studie 1, 2 a 3



3.1. Studie 1 – Incidence a mortalita lymfoproliferativních onemocnění v transplantované populaci

3.1.1. Charakteristika souboru a sběr dat

Ze základního souboru 8034 pacientů bylo pro účely studie 1 vyloučeno 279 pacientů s dobou follow-up trvající méně než 1 měsíc a 2088 pacientů s nekompletními nebo nedostupnými daty o follow-up (transplantace před rokem 1995 anebo po roce 2015). Výsledný soubor, který byl analyzován z hlediska incidence a mortality PTLĐ, tedy tvořilo 5667 pacientů transplantovaných v IKEM v letech 1995-2015.

Charakteristiku studovaného souboru zobrazuje Tabulka 4, časové údaje jsou zde vyjádřeny jako medián a interkvartilové rozpětí (IQR) počtu let.

Tabulka 4 Demografické charakteristiky studované transplantované populace a subpopulace pacientů s PTLĐ

Charakteristika		5667 pacientů po TX	78 pacientů s PTLĐ
Rok transplantace		1995-2015	1995-2015
Délka sledování medián, IQR počtu let		6,6 (3,0-11,0)	12,4 (7,9-17,9)
Pohlaví	Muži	3701	57
	Ženy	1966	21
Věk v době TX (roky)	Medián (IQR)	51,9 (41,6-59,5)	53,1 (60,6-39,3)
	<18 let	89	4
	18-50 let	2479	31
	51-60 let	1830	23
	>60 let	1269	20

Tabulka 4 - pokračování

Charakteristika		5667 pacientů po TX	78 pacientů s PTLĐ
TX orgán	Srdce	752	13
	Ledvina	3333	26
	Játra	1065	30
	Pankreas + Ledvina	436	7
	Jiný*	81	2
Retransplantace	>1 TX	507	4
	>2 TX	39	0

*Pankreas, játra+ledvina, srdce+ledvina, srdce+plíce, pankreas+játra+tenké střevo

Pro výpočet incidence lymfoproliferativních onemocnění v běžné populaci jsme využili data z neveřejné části NOR ÚZIS ČR (diagnózy C81-C96) a data o počtu obyvatel v ČR zveřejněné Českým statistickým úřadem. Sledované období (1995-2015) bylo identické jako u souboru transplantovaných pacientů, abychom zajistili srovnatelnost dat.

3.1.2. Statistická analýza

Frekvence výskytu nových případů PTLĐ v transplantované populaci je vyjádřena jako kumulativní incidence (incidence risk, počet nových onemocnění dělený počtem sledovaných osob, které byly na počátku intervalu bez nemoci) a incidenční poměr (incidence rate/density, počet nových onemocnění dělený součtem let sledování všech osob bez nemoci). Frekvence výskytu lymfoproliferativních onemocnění v běžné populaci ČR je vyjádřena jako průměrná roční incidence na 1000 obyvatel ve sledovaném období let 1995 - 2015.

Riziko vzniku PTLĐ v různých skupinách pacientů po TX bylo vypočteno s použitím modelu kompetujících rizik („competing risk model“) podle Fineho a Greye, pro vizualizaci byla použita funkce kumulativní incidence. Prezentované grafy zobrazují

křivku momentální pravděpodobnosti (kumulativní incidence) že pacient onemocní PTLT, v daném časovém okamžiku po TX.

Pro analýzu přežívání pacientů s PTLT a bez PTLT v období 20 let po TX byla použita Kaplan-Meierova analýza. Tento typ analýzy však může být ovlivněn tzv. „immortal time bias“ u pacientů s PTLT (doba od TX do diagnózy PTLT, kdy je pravděpodobnost úmrtí pacienta nulová), která mohla falešně podhodnotit úmrtnost ve skupině PTLT. Pro přesnější odhad rizika úmrtí v závislosti na PTLT jsme proto použili i Coxův regresní model s adjustací na věk pacienta a časově závislou proměnnou („Cox regression hazard model with time-dependent covariate, adjusted to age“).

3.2. Studie 2 – Využití laboratorních metod pro detekci monoklonální gamapatie po transplantaci srdce

3.2.1. Charakteristika souboru a sběr dat

Analýzovali jsme data 96 pacientů po transplantaci srdce, z toho 81 mužů a 15 žen. Věkový rozsah souboru byl 21-74 let (medián 54 let). Do studie byly zahrnuti pacienti, u kterých byla provedena transplantace srdce v IKEM v letech 2010-2012. Ze studie bylo vyloučeno 30 pacientů, důvodem byla neúplná klinická data, nerealizování odběru biologického materiálu, nebo úmrtí pacienta během sledovaného období.

Všechna relevantní klinická data byla získána z elektronické zdravotní dokumentace, která je centralizovaná v nemocničním informačním systému IKEM. Na základě literárních údajů o vzniku většiny gamapatií v prvních dvou letech po transplantaci jsme délku sledování pacientů stanovili na dva roky.

Od každého pacienta byly získány vzorky krve v definovaných časových bodech před TX a v 9., 18. a 24. měsíci po transplantaci. Centrifugací byly získány vzorky séra, které byly následně uskladněny v biobance Pracoviště laboratorních metod IKEM při -70 °C tak, aby byla dodržena stabilita všech analytů pro plánované laboratorní vyšetření.

Demografické charakteristiky, potenciální rizikové faktory pro vznik gamapatie a PTLD (CMV, EBV, koncentrace imunosupresivní medikace) a počty pacientů s nálezem dysgamaglobulinémie (monoklonální, biklonální a oligoklonální) jsou shrnuty v Tabulce 5. Po transplantaci srdce je u všech pacientů indikován vysoce-dávkový imunosupresivní režim založený na použití takrolimu, mykofenolát mofetilu, kortikosteroidů, případně jednoho z mTOR inhibitorů.

Tabulka 5 Demografické charakteristiky, potenciální rizikové faktory pro vznik GP a PTLD a počet pacientů s GP po TX srdce.

Charakteristika		Počet pacientů		
		Celkem	Patologie SFLC κ / λ	Patologie SPE/SIFE
Pohlaví	Muži	82	21	12
	Ženy	14	3	4
Věk (roky)	<40	19	3	2
	40-50	17	4	6
	50-60	33	11	4
	>60	27	6	4
Diagnóza vedoucí k TX srdce	Ischem. choroba srdce	33	8	4
	Kardiomyopatie	61	16	11
	Jiná	2	0	1
CMV sérostatus před TX srdce	CMV infekce v minulosti (IgG reakt., IgM negativní)	68	19	7
	Séronegativní (IgM + IgG negativní)	19	4	8
	Aktivní infekce (IgM reaktivní, PCR pozit.)	0	0	0
	Falešná IgM reaktivita (PCR negativní)	3	0	0
	Netestováno	6	1	1

Tabulka 5 - pokračování

Charakteristika			Počet pacientů		
			Celkem	Patologie SFLC κ / λ	Patologie SPE/SIFE
CMV infekce po TX srdce (konfirmasiovaná PCR)	Ano		16	5	10
	Ne		80	19	6
EBV sérostatus před TX srdce	Akutní infekce/reaktivace		2	0	2
	EBV infekce v minulosti		89	22	14
	Séronegativní		1	0	0
	Netestováno		4	2	0
Takrolimus - průměrná koncentrace po TX srdce ($\mu\text{g/l}$)	0.-9. měsíc	<5	0	0	0
		5-10	1	0	0
		10-15	85	22	13
		>15	1	1	0
		N/A *	9	1	3
	9.-18. měsíc	<5	0	0	0
		5-10	51	13	7
		10-15	33	10	6
		>15	3	0	0
		N/A *	9	3	3
	18.-24. měsíc	<5	3	2	0
		5-10	72	18	10
		10-15	8	2	1
		>15	2	0	0
		N/A *	11	4	5

(*) Pacienti s alternativním imunosupresivním režimem bez takrolimu, anebo nedostatkem dat o dávkování a koncentraci imunosupresivní terapie nejsou zahrnuti.

3.2.2. Laboratorní vyšetření a statistická analýza

Všechna laboratorní vyšetření byla realizována v laboratoři akreditované podle normy ISO 15189 k zajištění analytické kvality. Měření byly provedeny v jednom analytickém běhu pro minimalizaci zkreslení výsledků analytickou variabilitou (střídání šarží reagensů, kalibrací, personálu, podmínek prostředí). Variabilita v subjektivním hodnocení SPE a SIFE byla minimalizována posouzením jednou osobou.

Vzorky byly vyšetřeny metodami SPE a SIFE, které jsou zlatým standardem pro diagnostiku gamapatií u netransplantované populace. Pro analýzu byl použit analyzátor Sebia Hydrasys 2 a elektroforetické gely a imunofixační antiséra Sebia (Sebia, Parc Technologique Léonard de Vinci-Rue Léonard de Vinci, CP 8010 Lisses, 91008 EVRY CEDEX, France). Nálezů byly rozděleny do čtyř kategorií (normální elektroforeogram, monoklonální, biklonální a oligoklonální GP).

Koncentrace FLC byly stanoveny imunoturbidimetrickou metodou na analyzátoru Binding Site SPA Plus, s použitím diagnostických kitů Binding Site Freelite (Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, UK). Následně byly vypočteny poměry FLC κ / FLC λ . U všech pacientů byla vyšetřena glomerulární filtrace pomocí odhadu ze sérového kreatininu (eGFR, rovnice CKD EPI 2009) [105]. V případě renální insuficience (eGFR pod 1,0 ml/s na 1,73 m²) byla pro hodnocení poměru FLC κ / FLC λ použita speciální referenční rozmezí (0,37-3,1) [106].

Výsledky koncentrace FLC a poměru FLC κ / FLC λ byly rozděleny do šesti kategorií:

- normální koncentrace i poměr FLC κ / FLC λ
- patologická koncentrace FLC κ , nebo FLC λ a normální poměr FLC κ / FLC λ
- normální koncentrace FLC a patologický poměr FLC κ / FLC λ
- zvýšená koncentrace FLC κ , nebo FLC λ a patologický poměr FLC κ / FLC λ – tzv. „monoklonální typ.“
- snížená koncentrace FLC κ , nebo FLC λ a patologický poměr FLC κ / FLC λ

V případě, že v průběhu času docházelo ke změnám v nálezů u stejného pacienta, byla pro účely analýzy frekvence jednotlivých typů GP nálezů přiřazena kategorie podle posledního dostupného výsledku. Nálezy byly označeny jako perzistentní, pokud se u pacienta vyskytovaly aspoň ve dvou po sobě následujících časových bodech včetně 24. měsíce (konec sledovaného období). V případě, že se nález vyskytoval jen ve 24. měsíci po TX srdce nebylo možné posouzení jeho dalšího vývoje. Pro tento případ jsme zvažovali možnost vytvoření samostatné skupiny, nicméně pro malý počet pacientů by jejich samostatná analýza neměla smysl. Tyto nálezy jsme označili jako tranzientní (viz kapitola 4. Výsledky).

Koncentrace takrolimu v plazmě a kreatininu v séru byla stanovena na analyzátoru Abbott Architect ci16200 s použitím diagnostických kitů Abbott (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA).

Pro analýzu statistické signifikance dynamiky FLC po transplantaci byl použit Friedmanův test.

3.3. Studie 3 – Výskyt gamapatií v potransplantačním období, analýza asociace mezi gamapatií a PTLD

3.3.1. Charakteristika souboru a sběr dat

Analýzovali jsme data příjemců transplantátů solidních orgánů, u kterých byly k dispozici výsledky vyšetření SPE a SIFE a kteří byli transplantováni v IKEM v období let 1966–2015. Do souboru byli zahrnuti pacienti po transplantaci všech typů solidních orgánů, kromě transplantace plic, která se v IKEM neprovádí.

Z databáze nemocničního informačního systému IKEM byly extrahovány výsledky SPE a SIFE a demografické a klinické údaje o pacientech (pohlaví, věk v době transplantace, transplantovaný orgán, datum transplantace, typ a datum diagnózy PTLD, ztráta alograftu a datum úmrtí pacienta). Pacienti byli sledováni od data první transplantace do data posledního vyšetření v roce 2015 nebo data úmrtí.

Několik typů provedených analýz si vyžádalo rozdělení pacientů do tří kohort A, B a C (viz níže), každá ze skupin byla definována rozdílnými inkluzními kritérii. Charakteristiky kohort uvádíme v Tabulce 6, inkluzní kritéria uvádíme pro každou kohortu v textu níže. Pro lepší přehlednost uvádíme schéma náboru pacientů (Schéma 2).

Kohorta A

Tato primární skupina, použitá po většinu analýz, je tvořena pacienty po TX, u kterých byly k dispozici relevantní výsledky SPE/SIFE se zdokumentovanou analytickou kvalitou (analyzátor Sebia Hydrasys 2, diagnostické kity Sebia pro SPE a SIFE na agarózovém gelu). Vzhledem k tomu, že SPE a SIFE jsou metody zatížené určitou mírou subjektivity při interpretaci nálezů, bylo další klíčovou podmínkou standardizované hodnocení elektroforeogramů (dva alternující lékaři s praktickou zkušeností) a vydávání výsledků v doporučeném formátu [107].

Gamapatie byla definována jako jasná monoklonální, biklonální, nebo oligoklonální linie na SPE gelu, která byla následně potvrzena pomocí SIFE, včetně určení jejího typu. Vývoj GP v čase byl hodnocen jen v případě, že byl u pacienta k dispozici více než jeden SPE/SIFE výsledek. Gamapatii jsme označili jako perzistentní, jen pokud byla přítomna aspoň ve dvou po sobě jdoucích nálezech a zároveň její přítomnost přetrvala do konce sledovaného období. V opačném případě jsme GP klasifikovali jako tranzientní.

Co se týče lymfoproliferativních onemocnění, zahrnuli jsme jen případy, které se vyskytly více než 6 měsíců po transplantaci, abychom vyloučili situace s případnou předtransplantační lymfoproliferací. Dalším inkluzním kritériem byla verifikace PTLD patologem a použití WHO klasifikace [58]. Kromě toho jsme zahrnuli i 6 pacientů s lymfoproliferací, která není součástí WHO klasifikace (2 případy chronické B – lymfocytární leukémie/lymfomu z malých lymfocytů, 1 případ lymfomu z plášťové zóny, 1 případ kožního lymfomu, 1 případ centroblastického/centrocytárního non-Hodgkinského lymfomu a 1 případ B – lymfoblastického lymfomu). Výsledná kohorta 1677 příjemců transplantátů (výsledky SPE a SIFE po transplantaci byly k dispozici u 1633 pacientů, výsledky SPE a SIFE před transplantací u 480 pacientů) byla použita pro

stanovení frekvence a klinického významu gamapatií a diagnostické výtěžnosti SPE a SIFE pro detekci PTLD.

Kohorta B

Pomocí databáze transplantovaných pacientů IKEM jsme identifikovali transplantované pacienty, u kterých mohl být indikován screening pomocí SPE a SIFE, ale z různých důvodů nebyl proveden a kteří podstoupili TX v letech 2005 – 2015 (2624 pacientů). Toto inkluzní kritérium jsme zavedli kvůli standardizované analytické metodologii a interpretaci SPE a SIFE v tomto období. Tato kohorta byla vytvořena za účelem vytvoření referenční skupiny pro další analýzy (viz kohorta C).

Kohorta C

Jako poslední byla vytvořena podskupina pacientů z kohorty A, která byla srovnatelná s referenční kohortou B, pokud jde o věk, pohlaví, rok TX, délku sledování a typ PTLD (1028 pacientů). To umožnilo srovnávací analýzy efektivnosti diagnostiky PTLD u pacientů s a bez provedeného potransplantačního screeningu GP a také posouzení současného stavu screeningu pomocí SPE / SIFE u příjemců transplantátů.

Tabulka 6 Charakteristiky jednotlivých kohort

Charakteristika		Kohorta A Primární (n=1677)	Kohorta B Referenční (n=2624)	Kohorta C Podskupina kohorty A (n=1028)
Rok TX		1966-2015	2005-2015	2005-2015
Délka sledování, medián (IQR) počtu let		8,0 (4,0 – 12,0)	6,9 (4,3 – 10,3)	8,1 (5,3 – 10,6)
Pohlaví	Muži	1028 (61,3 %)	1761 (67,1 %)	652 (63,4 %)
	Ženy	649 (38,7 %)	863 (32,9 %)	376 (36,6 %)

Tabulka 6 - pokračování

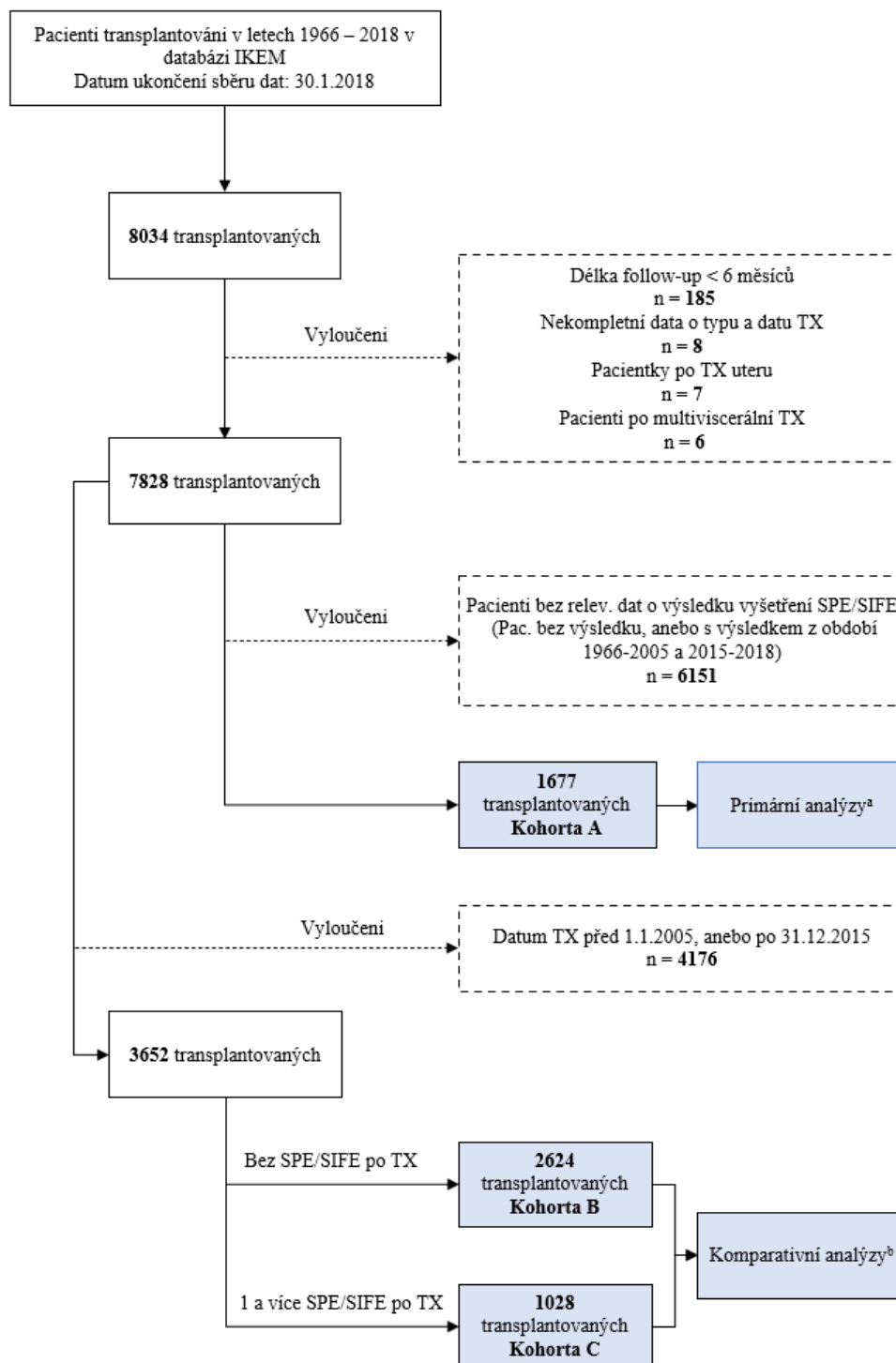
Charakteristika		Kohorta A Primární (n=1677)	Kohorta B Referenční (n=2624)	Kohorta C Podskup. A (n=1028)
Věk v době TX (roky)	Medián (IQR)	52,1 (41,4 – 59,4)	52,7 (41,4 – 60,9)	54,5 (44,9 – 61,3)
	<18	28 (1,7 %)	60 (2,3 %)	12 (1,2 %)
	18-50	689 (41,1 %)	1070 (40,8 %)	353 (34,3 %)
	>50	960 (57,2 %)	1494 (56,9 %)	663 (64,5 %)
TX orgán	Srdce	41 (2,4 %)	447 (17 %)	23 (2,2 %)
	Ledvina	723 (43,8 %)	1678 (64,0 %)	395 (38,4 %)
	Játra	824 (48,5 %)	253 (9,6 %)	559 (54,5 %)
	Játra + Ledvina	24 (1,4 %)	11 (0,4 %)	21 (2,0 %)
	Pankreas + Ledvina	50 (3,0 %)	235 (9,0 %)	30 (2,9 %)
	Jiný*	15 (0,9 %)	Nejsou data†	Nejsou data‡
PTLD (počet případů)	Všechny	47 (2,8 %)	17 (0,6 %)	20 (1,9 %)
	Early lesion	2 (0,1 %)	1 (<0,1 %)	0
	Polymorfní	1 (0,1 %)	1 (<0,1 %)	0
	Monomorfní B	30 (1,8 %)	11 (0,4 %)	15 (1,5 %)
	Monomorfní T/NK	4 (0,2 %)	3 (0,1 %)	3 (0,3 %)
	Hodgkinův lymfom	2 (0,1 %)	1 (<0,1 %)	0
	Jiná†	6 (0,4 %)	0	1 (<0,1 %)
	Nespecifikovaná	2 (0,1 %)	0	1 (<0,1 %)

*Pankreas, Srdce + Ledvina, Ledvina + Langerhansovy ostrůvky, Játra + Langerhansovy ostrůvky, Langerhansovy ostrůvky.

†2 B-SLL/CLL, CB/CC NHL, kožní lymfom, lymfoblastický lymfom, lymfom z buněk plášťové zóny.

‡Analýza kohort B a C byla provedena jen pro 5 hlavních typů TX.

Schéma 2 Nábor pacientů pro studii 3



^a Frekvence GP a jejich první detekce, klinický význam GP (time-to-event analýzy), diagnostická výtěžnost SPE/SIFE pro diagnostiku PTLD

^b Současný stav indikace SPE/SIFE před a po transplantaci, efektivita diagnostiky PTLD ve skupině bez SPE/SIFE a se SPE/SIFE

3.3.2. Statistická analýza

3.3.2.1. Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE u pacientů s PTLT

Diagnostická senzitivita, specifická a pozitivní a negativní prediktivní hodnoty SPE a SIFE pro PTLT byly vypočteny na základě výsledků z období dvou let před stanovením diagnózy PTLT. Užitečnost SPE a SIFE v diagnostice PTLT byla hodnocena porovnáním počtu diagnostikovaných případů a času do stanovení diagnózy PTLT v kohortách pacientů B a C.

3.3.2.2. Longitudinální (time-to-event) analýzy

Abychom určili relativní riziko PTLT, ztráty štěpu a úmrtí spojené s přítomností potransplantační GP, provedli jsme Coxovu regresní analýzu proporcionálního rizika a tzv. regresní analýzu konkurenčních rizik (competing risk regression) podle Fineho a Greye [108]. Pacienti byli do analýzy zahrnuti od data TX do data primární události (PTLT, smrt, ztráta štěpu), nebo do konce observace (16. 11. 2016), podle toho, která událost nastala dříve. V analýze rizika PTLT a ztráty štěpu bylo úmrtí pacienta považováno za konkurenční událost v rámci modelu Fineho a Greye.

Časovou škálou pro oba regresní modely byl čas od vstupu do studie do ukončení observace pacienta („censoring“). Censoring byl definován buď posledním datem observace, nebo úmrtím. Pro posouzení, zda se účinek GP liší mezi jednotlivými typy TX byly provedeny subanalýzy specificky u pacientů po TX jater a ledvin. Další subanalýzy nebylo možné vzhledem k malému rozsahu vzorku provést. Vzhledem k časovému zpoždění mezi vstupem do studie a diagnózou GP po TX byla primární expozice v obou regresních modelech analyzovaná jako časově-proměnná („time-varying covariate“).

Celkem jsme provedli devět regresních analýz. Tři Coxovy regresní analýzy vlivu GP na jednotlivé primární události (PTLT, ztráta štěpu, úmrtí), dvě analýzy asociace gamapatie s diagnózou PTLT a ztrátou štěpu podle modelu Fineho a Greye a čtyři

Coxovy stratifikované subanalýzy vlivu GP na ztrátu štěpu nebo úmrtí (dvě u pacientů po TX ledvin a dvě u pacientů po TX jater).

Všechny analýzy byly korigované (adjustované) na věk pacienta v době TX. Adjustace na pohlaví nebyla provedena kvůli statisticky ekvivalentnímu rozdělení GP u mužů a žen (chi-kvadrát pro rozdíl, $p = 0,483$) a nesignifikantním asociacím v regresních modelech. Žádná proměnná neporušila předpoklad proporcionality rizika.

Data byla analyzována pomocí programu SAS verze 9.4 (SAS institute, Cary, NC). Výsledky Coxovy, resp. Fineho a Greyho regrese jsou uvedeny jako relativní riziko ve formě HR s 95% CI.

4. Výsledky

4.1. Studie 1 – Incidence a mortalita lymfoproliferativních onemocnění v transplantované populaci

V této části budeme prezentovat výsledky souboru 5667 pacientů po TX solidních orgánů provedené v IKEM v letech 1995-2015. Podrobnou charakteristiku souboru uvádíme v tabulce 4, přehled zařazení pacientů do studie zobrazuje schéma 1.

4.1.1. Incidence PTLT

V tabulce 7 uvádíme přehled incidence PTLT v závislosti na pohlaví, věku, transplantovaném orgánu a počtu transplantací. Celková incidence (vyjádřena jako incidence rate) u všech TX pacientů byla 1,86 případů na 1000 osoboroků (CI 1,64-2,08). Incidence byla jasně vyšší u mužů než u žen (incidence rate 2,1 vs. 1,4 případů na 1000 osoboroků). Výskyt PTLT měla v závislosti na věku dva vrcholy, a to u TX pacientů mladších než 18 let (6,77 případů na 1000 osoboroků) a starších než 60 let (3,06 případů na 1000 osoboroků). Z dat také vyplývá, že PTLT jsou nejvíce ohroženi pacienti po TX jater a kombinovaných transplantacích (Tabulka 7). Medián (IQR) doby do vzniku PTLT byl 5,0 (2,1-9,0) let po TX. Nejdříve se PTLT rozvinula u příjemců TX jater (3,7 let), nejpozději u příjemců TX srdce (7,9 let).

Nejvyšší incidence PTLT byla v 1. roce po TX (15 % všech PTLT), s poklesem ve 2. a 3. roce a následným zvýšením ve 4.-6. roce po TX. Počet nově diagnostikovaných případů v období prvních 6 let po TX je zobrazen na Grafu 3.

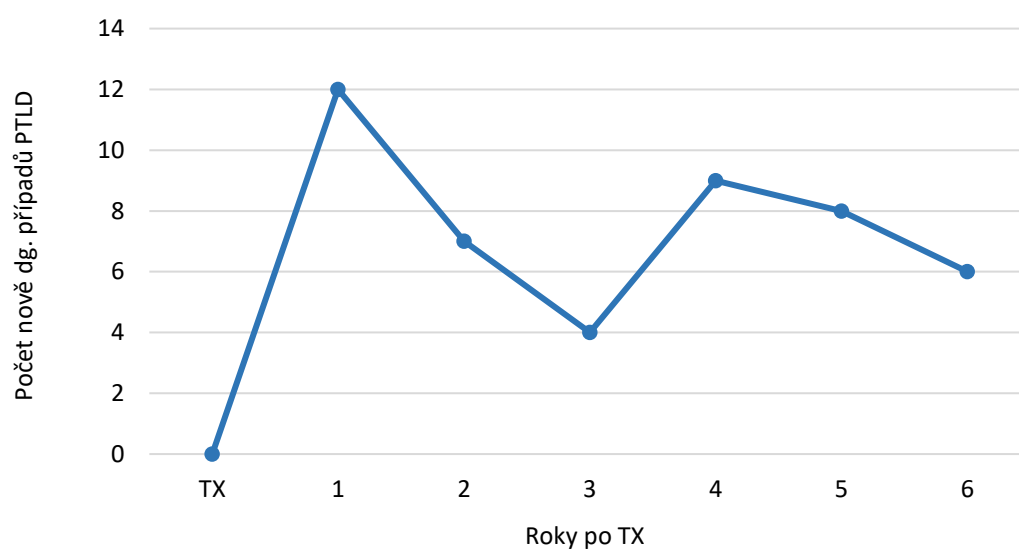
Kromě standardních epidemiologických ukazatelů výskytu PTLT uvádíme i výsledky analýzy rizika rozvoje PTLT v různých skupinách pacientů po TX (model kompetujících rizik podle Fineho a Greye). Výsledky prezentujeme i v grafické podobě, prezentované grafy zobrazují křivku momentální pravděpodobnosti – osa y (funkce kumulativní incidence) že pacient onemocní PTLT v daném časovém okamžiku po TX – osa x (Grafy 4-6).

Tabulka 7 Incidence a doba do vzniku PTLD pro jednotlivé skupiny TX pacientů

Charakteristika		Incidence risk %	Incidence rate počet případů na 1000 osoboroků (95% CI)	Nástup PTLD po TX medián (IQR) let
Všichni TX		1,4	1,86 (1,64-2,08)	5,0 (2,1-9,0)
Pohlaví	Muži	1,5	2,1 (1,84-2,36)	4,9 (1,9-8,8)
	Ženy	1,1	1,4 (0,97-1,83)	6,7 (3,2-9,8)
Věk v době TX (roky)	<18	4,5	6,77 (5,79-7,75)	4,7 (1,9-6,0)
	18-50	1,3	1,44 (1,09-1,8)	7,3 (2,9-11,1)
	51-60	1,3	1,71 (1,3-2,11)	5,5 (0,8-9,9)
	>60	1,6	3,06 (2,63-3,5)	3,9 (2,0-5,9)
TX orgán	Srdce	1,72	2,33 (1,78-2,87)	7,9 (3,3-12,6)
	Ledvina	0,8	1,03 (0,64-1,41)	6,3 (3,4-9,0)
	Játra	2,8	4,07 (3,71-4,42)	3,7 (1,0-7,3)
	Pankr.+ ledv.	1,6	2,13 (1,39-2,87)	4,9 (0,6-8,9)
	Jiný*	2,5	4,12 (3,71-4,42)	-
Retransplantace (>1 TX)		0,8	0,69 (0-1,67)	2,5 (0,4-9,4)

*Pankreas, játra+ledvina, srdce+ledvina, srdce+plíce, pankreas+játra+tenké střevo

Graf 3 Rozložení incidence PTLD v čase po transplantaci.



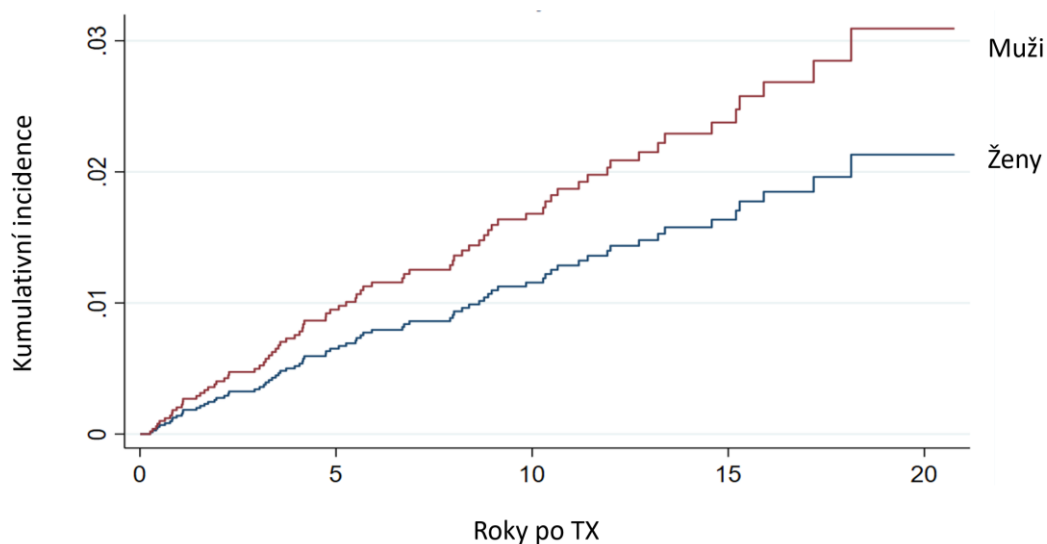
Je zřejmé, že riziko PTLD bylo vyšší pro muže ve všech časových bodech (Graf 4), přičemž rozdíl mezi muži a ženami se v průběhu potransplantačního období kontinuálně zvyšoval. Muži měli 1,5-násobně vyšší riziko PTLD než ženy, i když tento rozdíl byl pod hranicí statistické signifikance (HR 1,458; 95 % CI 0,88 – 2,40).

Graf 5 zobrazuje riziko PTLD v závislosti na věku v době TX. Pro statistické srovnání jednotlivých věkových skupin v době TX byla jako referenční vybrána skupina 689 pacientů s věkem 18-50 let v době TX, která se vyznačovala nejnižší incidencí PTLD (incidence rate 1,44; 95% CI 1,09-1,8) ze všech věkových skupin (Tabulka 7). Ve skupině pacientů s věkem v době TX <18 let bylo riziko PTLD 4,7-násobně vyšší (HR 4,69; 95% CI 1,65-13,5) ve srovnání s referenční skupinou (Graf 5). Riziko ve skupině 50-60 let v době TX bylo riziko prakticky totožné s referenční skupinou. Data naznačují také i 1,5-násobně vyšší riziko PTLD ve skupině pacientů starších než 60 let ve srovnání s referenční skupinou (18-50 let), tento rozdíl však ve sledované skupině nebyl statisticky signifikantní (HR 1,53; 95% CI 0,88-2,67).

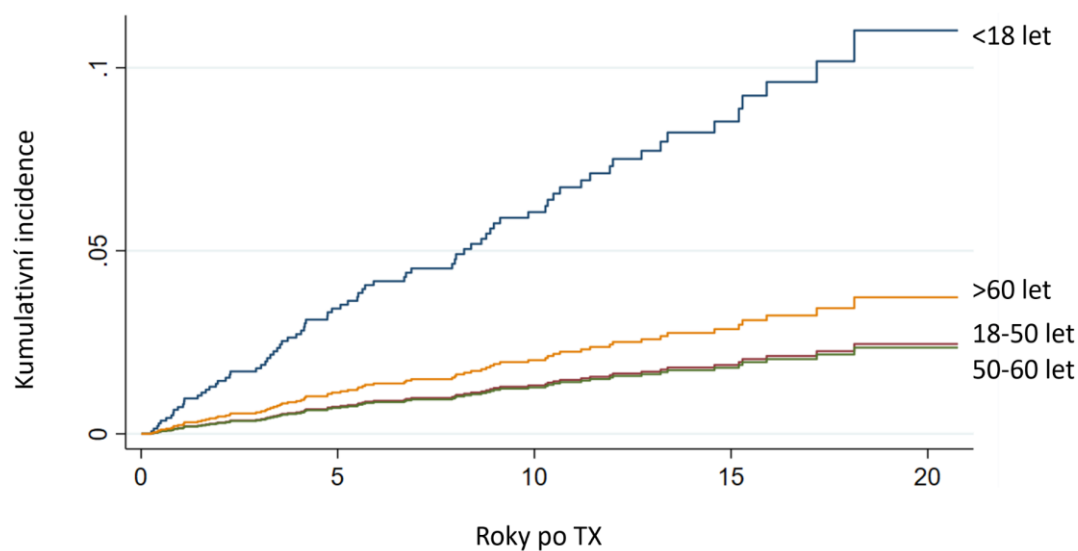
Pro analýzu rizika PTLD v závislosti na typu transplantace jsme jako referenční skupinu zvolili pacienty po TX ledvin. Signifikantně vyšší riziko PTLD měli pacienti po TX jater (HR 4,2; 95% CI 2,5-7,1), a TX srdce (HR 2,1; 95% CI 1,1-4,17), u pacientů po TX ledviny a pankreatu bylo zvýšené riziko těsně pod hranicí statistické signifikance (HR 2,2; 95% CI 0,97-5,14). Závislosti mezi rizikem PTLD a časem po TX pro jednotlivé typy TX orgánů jsou zobrazeny na grafu 6.

Rozdíly ve výskytu jednotlivých histopatologických typů PTLD byly značné (Graf 7). Nejčastějším nálezem byl difuzní velkobuněčný lymfom (40 % případů), následovaný poměrně vysokým procentem plazmocelulárních lymfoproliferací (10 % případů). Z dat je patrná výrazná převaha monomorfních PTLD a B – buněčných non – Hodgkinských lymfomů.

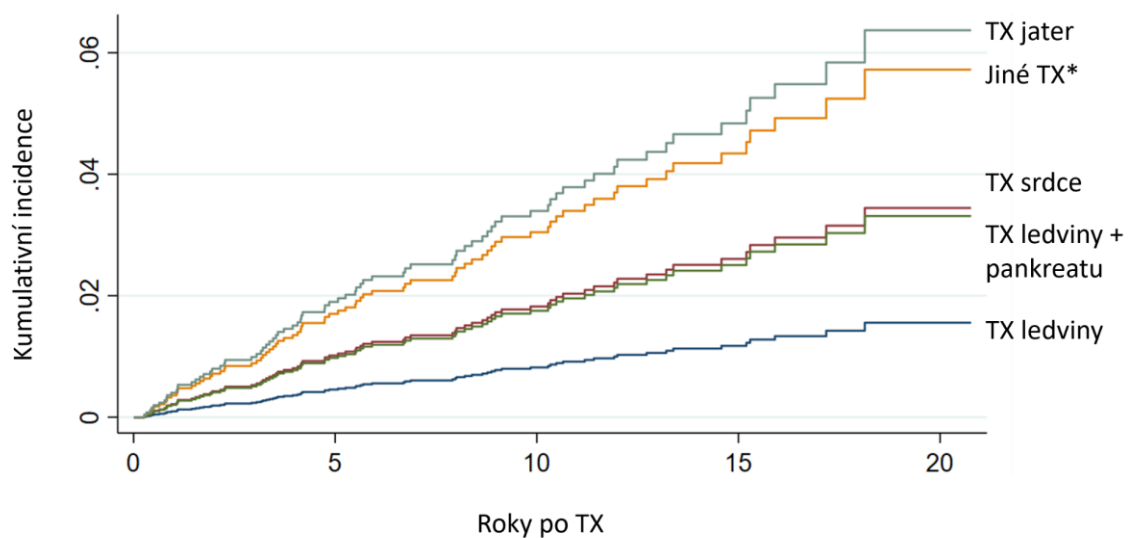
Graf 4 Vizualizace výstupu z modelu kompetujících rizik pro jednotlivá pohlaví (model Fineho a Greye). Křivky reprezentují momentální pravděpodobnost, že pacient onemocní PTLD v daném časovém okamžiku po TX.



Graf 5 Vizualizace výstupu z modelu kompetujících rizik pro jednotlivé věkové skupiny (model Fineho a Greye). Křivky reprezentují momentální pravděpodobnost, že pacient onemocní PTLD v daném časovém okamžiku po TX.

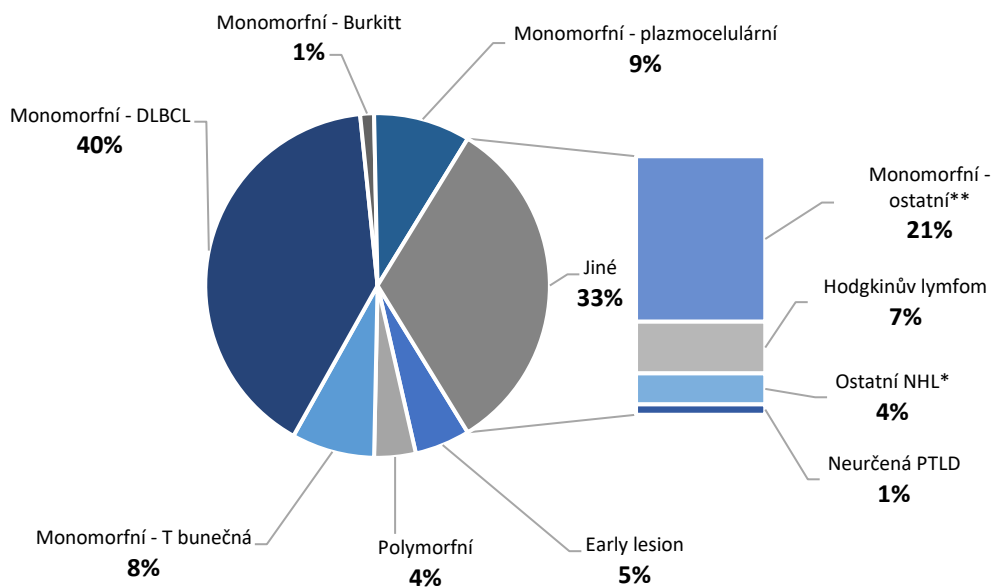


Graf 6 Vizualizace výstupu z modelu kompetujících rizik pro jednotlivé typy transplantace (model Fineho a Greye). Křivky reprezentují momentální pravděpodobnost, že pacient onemocní PTLD v daném časovém okamžiku po TX.



*Pankreas, játra+ledvina, srdce+ledvina, srdce+plíce, pankreas+játra+tenké střevo

Graf 7 Zastoupení jednotlivých typů potransplantačních lymfoproliferací



*1 kožní lymfom, 1 centrocytární/centroblastický lymfom, 1 lymfoblastický difúzní lymfom

**9 nespecifikovaných B lymfomů, 4 MALT lymfomy, 1 prekurzorový lymfoblastický lymfom CD10 (CALLA)+, 1 mantle-cell lymfom, 1 plasmoblastický CD20 negativní lymfom, 1 anaplastický velkobuněčný lymfom, 1 chronická lymfatická leukémie

4.1.2. Incidence lymfoproliferativních onemocnění v běžné populaci ČR

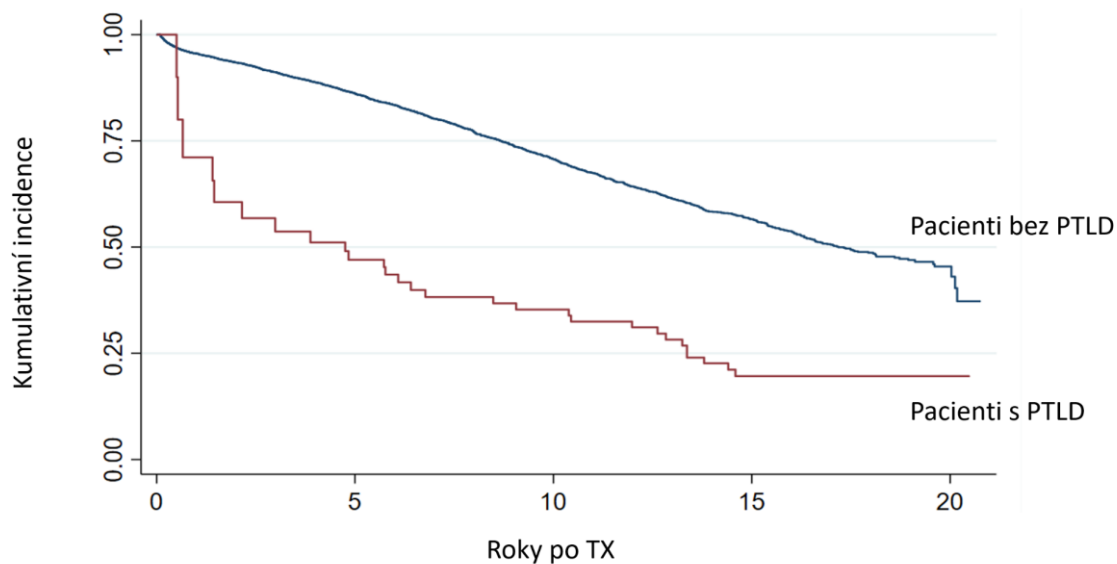
V průběhu sledovaného období 1995-2015 bylo v ČR diagnostikováno celkem 79606 nových případů lymfoproliferativního onemocnění, z toho 41888 u mužů a 37718 u žen. Průměrná roční incidence byla 0,37 nových případů na 1000 obyvatel. Zdrojem těchto dat je neveřejná část NOR ÚZIS ČR (diagnózy C81-C96) a statistika počtu obyvatel ČR zveřejněná Českým statistickým úřadem.

4.1.3. Mortalita PTLD

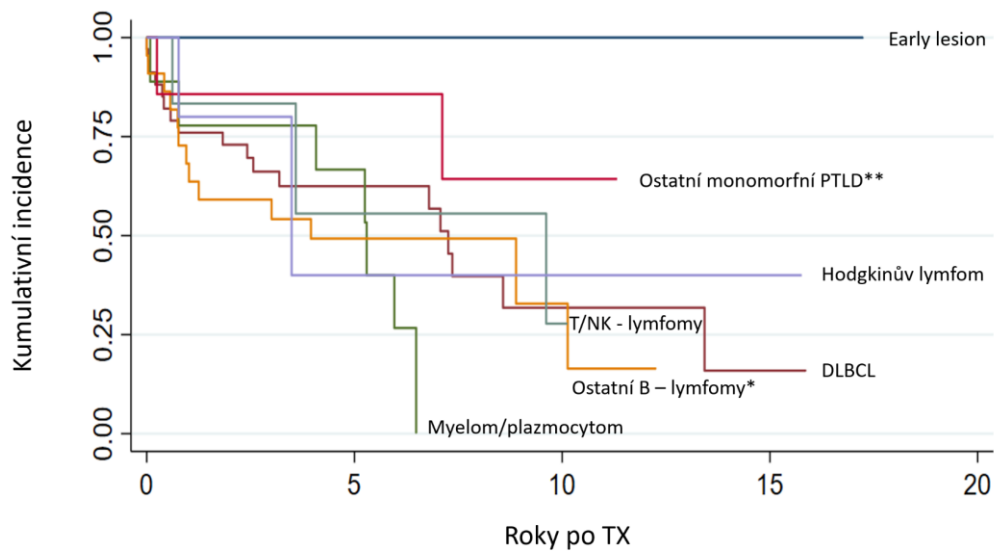
Přežívání pacientů IKEM (n=5667) v období 20 let po transplantaci zobrazuje graf 8 (Kaplan-Meierova analýza), přičemž pacienti s PTLD mají jasně vyšší úmrtnost během celého sledovaného období. Nejvýraznější rozdíl je patrný v období prvních 5 let po TX, ve skupině pacientů s PTLD je mortalita na úrovni 50 %, u pacientů bez PTLD je úmrtnost přibližně 20 % (Graf 8). Riziko úmrtí u pacientů s PTLD je v porovnání s transplantovanou populací bez PTLD statisticky signifikantně vyšší i v Coxově regresním modelu adjustovaném na věk (HR 2,03; 95% CI 1,39-2,95). Riziko se vyznačuje variací v čase, nejvyšší je bezprostředně po diagnóze PTLD (HR 5,07; 95% CI 2,66-12,2) s následným poklesem o 11 % za rok v dalších letech.

Subanalýza přežití u jednotlivých histopatologických typů ukazuje pro DLBCL 5-leté přežití na úrovni 60%. Nejvyšší mortalita je spojena s plazmocelulární PTLD (myelom, plazmocytom), přežití výrazně klesá zejména po 5. roce od transplantace. Naproti tomu přežívání pacientů s PTLD typu „early lesion“ je velmi dobré, v našem souboru se 15 let po TX dožilo 100 % transplantovaných (Graf 9).

Graf 8 Kaplan-Meierova analýza přežití u pacientů po TX s PTLD a bez PTLD, adjustováno na věk.



Graf 9 Kaplan-Meierova analýza přežití pro jednotlivé typy PTLD.



⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙

* 1 Burkittův lymfom, 10 nespecifikovaných B lymfomů, 1 lymfom marginální zóny, 4 MALT lymfomy, 2 B-SLL/CLL, 1 prekurzorový lymfoblastický lymfom CD10 (CALLA)+, 1 difúzní high-grade pleomorfni B-lymfom, 1 mantle-cell lymfom, 1 plasmoblastický CD20 negativní lymfom, 1 anaplastický velkobuněčný lymfom

** 1 kožní lymfom, 1 cystadenolymfom, 1 centrocytární/centroblastický lymfom, 1 lymfoblastický difúzní lymfom, 1 aberantní CD20+ CD45RO+ T-lymfom

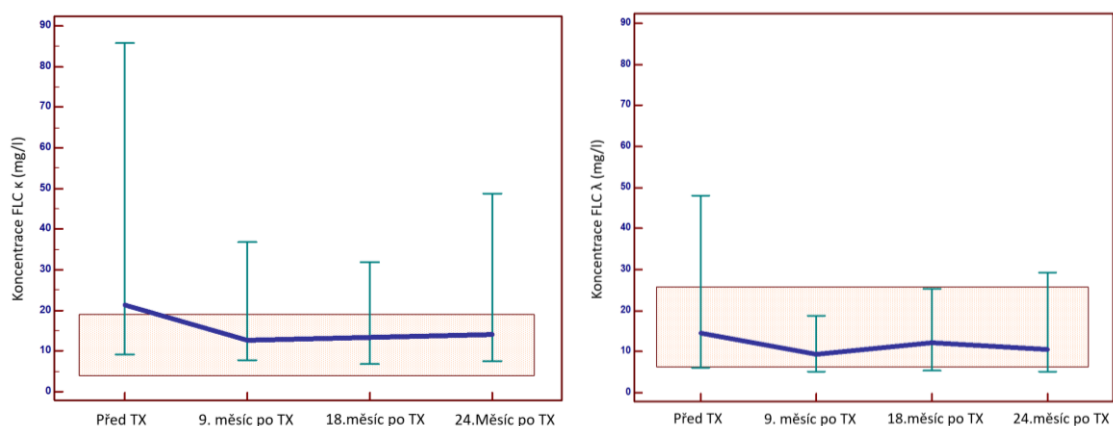
4.2. Studie 2 – Využití laboratorních metod pro detekci monoklonální gamapatie po transplantaci solidních orgánů.

V této studii uvádíme výsledky analýzy souboru 96 pacientů po TX srdce provedené v IKEM v letech 2010-2012. Pacienti byly sledováni po dobu dvou let, laboratorní vyšetření pro detekci gamapatie byly provedeny ze vzorků séra odebraných v 9., 18. a 24. měsíci po TX. Charakteristiku souboru lze najít v tabulce 5, přehled náboru pacientů uvádíme na schématu 1.

4.2.1. Dynamika koncentrace FLC před a po transplantaci srdce

Volné lehké řetězce κ a λ jsou kandidátní biomarkery pro zpřesnění diagnostiky MG a rizika PTLD. Sledovali jsme změny koncentrace FLC κ a FLC λ u 96 pacientů před TX a v období dvou let po TX srdce, výsledky zobrazují grafy 10 a 11. Statisticky významný pokles FLC κ a FLC λ (pokles o 39,1 %, respektive 27,6 %, v porovnání s hodnotami před transplantací) byl zaznamenán 9 měsíců po TX ($p < 0,001$, Friedmanův test). Koncentrace všech markerů vykazovaly stabilní nárůst během následujících 15 měsíců; do 24. měsíce po TX, však nedosáhly úrovně naměřené před TX (Graf 10 a 11).

Graf 10 a 11 Dynamika koncentrací FLC κ a FLC λ u 96 pacientů po TX srdce. Je zobrazen medián (plná spojovací čára), interval mezi 5. a 95. percentilem a referenční rozmezí (tečkovaný obdélník).



4.2.2. Porovnání shody mezi metodami SPE, SIFE a SFLC při simultánním vyšetření po transplantaci srdce

Porovnání nálezů s využitím SFLC a SPE nebo SIFE při simultánním vyšetření 274 vzorků po TX srdce je uvedeno v tabulce 8. U všech pacientů bylo předtransplantační vyšetření SPE a SIFE negativní. Po transplantaci bylo 168 (61.3 %) vzorků negativních při vyšetření oběma metodami, u 23 (8.4 %) vzorků byl přítomný patologický nálezn SPE a SIFE (monoklonální, biklonální, nebo oligoklonální GP), u 34 (12.4 %) vzorků byl nalezen patologický poměr FLC κ / λ , a u 49 (17.9 %) vzorků byl přítomný patologický vzestup koncentrace FLC s normálním poměrem κ / λ (polyklonální zvýšení obou, nebo jen jednoho z řetězců). U všech vzorků s nálezem patologického poměru FLC κ / λ byl výsledek vyšetření SPE a SIFE negativní (Tabulka 8).

Tabulka 8 Porovnání shody mezi metodami SPE, SIFE a SFLC při simultánním vyšetření 274 vzorků po TX srdce (počet nálezů).

SFLC* Počet nálezů (% testovaných vzorků)	SPE/SIFE Počet nálezů (% testovaných vzorků)			
	Normální	Monoklon. GP	Biklonální GP	Oligoklon. GP
Normální koncentrace a κ / λ	168 (61,3)	7 (2,55)	5 (1,82)	2 (0,73)
Patologický κ / λ	34 (12,4)	0	0	0
Patologická konc. a normální κ / λ	49 (17,9)	4 (1,46)	3 (1,1)	2 (0,73)

*V případě eGFR pod 1,0 ml/s na 1,73 m² bylo pro hodnocení výsledků použito renální referenční rozmezí (0,37-3,1).

4.2.3. Vývoj a charakter gamapatií v období 24 měsíců po transplantaci srdce

V další fázi studie jsme se zaměřili na skupinu pacientů s nálezem gamapatie při vyšetření SPE a SIFE, anebo nálezem patologického poměru FLC κ / λ . Zhodnotili jsme dobu prvního výskytu GP od TX a další vývoj v závislosti na typu nálezu.

Celkově jsme 81 % patologických nálezů klasifikovali jako přechodné. Pět pacientů s nálezem GP prostřednictvím SPE a SIFE a 3 pacienti s patologií FLC κ / λ měli perzistentní nález přítomný po dobu nejméně 2 po sobě jdoucích časových bodů, včetně 24. měsíce (konce sledovaného období). V 9 případech jsme zaznamenali patologický nález pouze ve 24. měsíci a tyto případy jsme klasifikovali jako tranzientní. U většiny pacientů byl nález přítomný již v 9. měsíci po TX srdce. Výjimkou byl monoklonální typ patologického poměru FLC κ / λ , který se vyskytoval až ve 24. měsíci (Tabulka 9).

Tabulka 9 Vývoj a charakter gamapatií během období 24 měsíců po TX srdce (počet pacientů s příslušným nálezem).

Metoda a typ patologie	Celkem	První nález (měsíce po TX)			Perzist. GP	Tranzient. GP
		9.	18.	24.		
SPE/SIFE Monoklonální GP	7	6	1	0	3	4
SPE/SIFE Biklonální GP	5	3	2	0	2	3
SPE/SIFE Oligoklonální GP	4	2	2	0	0	4
FLC κ / λ , monoklonální typ	8	2	0	6	1	7
FLC κ / λ , bez pat. koncentrace	11	8	0	3	1	10
FLC κ / λ , s poklesem koncentrace	5	4	1	0	1	4

*V případě eGFR pod 1,0 ml/s na 1,73 m² bylo pro hodnocení výsledků použito renální referenční rozmezí (0,37-3,1).

4.3. Studie 3 – Výskyt gamapatií v potransplantačním období, analýza asociace mezi gamapatií a PTLD

Tato část je věnována výsledkům analýzy souboru pacientů transplantovaných v IKEM v období let 1966-2015. Pacienti byli rozděleni do tří kohort A (n=1677), B

(n=2624) a C (n=1028), mechanismus vytvoření jednotlivých kohort je přehledně uveden na schématu 2. Podrobná charakteristika kohort je uvedena v tabulce 6. Pro lepší přehled uvádíme stručný přehled využití kohort v jednotlivých analýzách i zde.

Kohorta A

- Analýza frekvence a prvního výskytu GP po TX (část 4.3.1.)
- Procentuální zastoupení jednotlivých typů GP po TX (část 4.3.1.)
- Klinický význam gamapatií (část 4.3.3.)
- Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE pro detekci PTLD (část 4.3.4.)

Kohorty B a C

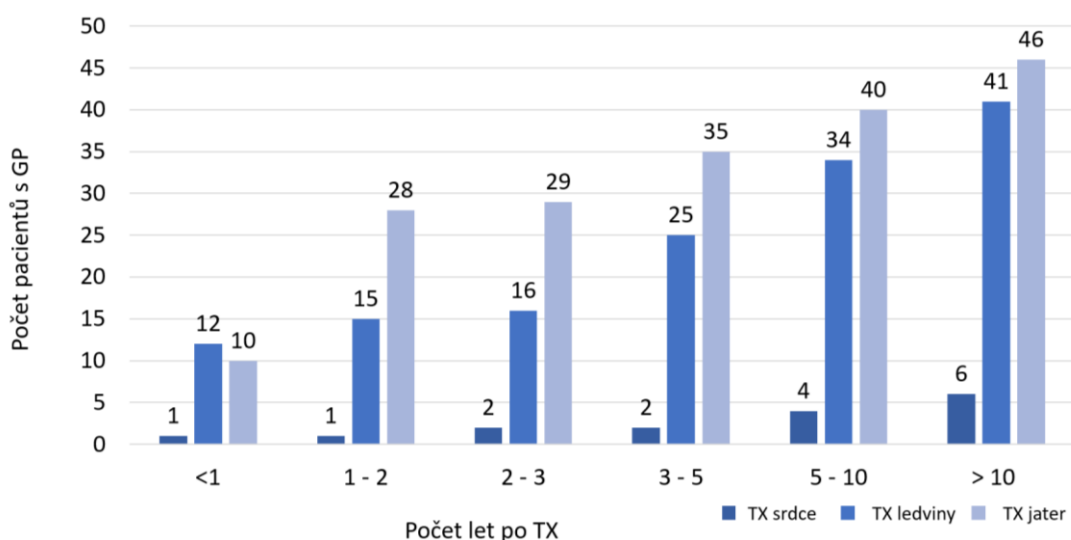
- Současný stav využití SPE a SIFE v potransplantační péči (část 4.3.2.)
- Vliv SPE a SIFE na efektivitu diagnostiky PTLD (část 4.3.4.)

4.3.1. Frekvence a první výskyt gamapatií

Frekvenci výskytu jednotlivých typů gamapatie uvádíme jako absolutní počet a procento pacientů s nálezem z celkového počtu testovaných pacientů. Dobu prvního výskytu gamapatií od transplantace uvádíme jako medián a IQR.

Patologický nález byl pomocí metody SPE a SIFE detekován u 20 (4,2 %) pacientů před TX a 107 (6,4 %) pacientů po TX. Monoklonální, biklonální a oligoklonální GP jsme našli u 71 (4,3 %), 9 (0,5 %) a 27 (1,6 %) pacientů po TX. Výskyt GP byl nejčastější po TX srdce, u 6 (15,4 %) případů. Medián mezi TX a vznikem GP byl 2,0 let s IQR 1,0 - 7,0 let (podrobněji Tabulka 10 a Graf 12).

Graf 12 Distribuce výskytu GP v průběhu sledovaného období v závislosti na typu TX. Graf uvádí inkrementální absolutní počty žijících pacientů s GP v daném časovém okamžiku po TX (kohorta A, n=1677).



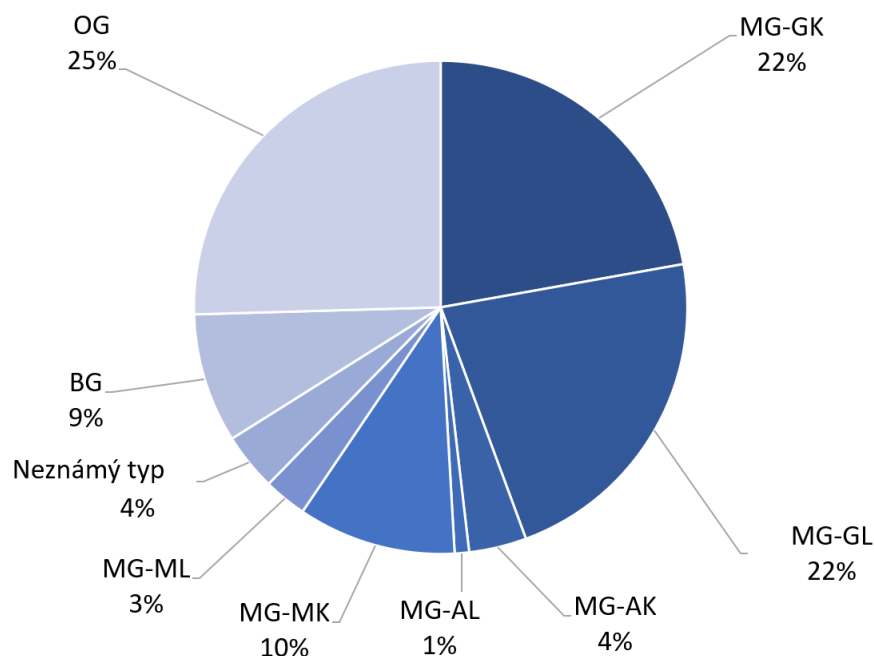
Tabulka 10 Frekvence nových případů potransplantační GP (absolutní a relativní počet) a počet let mezi TX a jejich první detekcí uveden jako medián a IQR (kohorta A, n=1677).

Typ GP	Frekvence absolutní počet (% všech testovaných)					První detekce (roky)	Perzist. GP
	TX srdce	TX ledviny	TX jater	Kombin. TX*	Všechny TX	Všechny TX	Všechny TX
Monokl.	3 (7,7)	37 (5,2)	30 (3,6)	1 (1,4)	71 (4,3)	2,0 (1,0 – 7,9)	76,4 %
Biklon.	0	4 (0,6)	3 (0,4)	2 (2,7)	9 (0,5)	4,0 (2,8 – 9,3)	83,3 %
Oligoklon.	3 (7,7)	4 (0,6)	16 (1,9)	4 (5,4)	27 (1,6)	2,0 (1,0 – 6,1)	39,1 %
Všechny GP	6 (15,4)	45 (6,4)	49 (5,9)	7 (9,5)	107 (6,4)	2,0 (1,0 – 7,0)	67 %

* TX Ledviny + Pankreatu a Jater + Ledviny

Nejčastějším nálezem po TX byla monoklonální GP s izotypem IgG κ , nebo IgG λ . Oba izotypy měly stejnou frekvenci a byly nalezeny ve 22 % všech případů GP (Graf 13). Distribuce jednotlivých typů GP byla závislá na typu transplantovaného orgánu. Po TX jater byly nejčastějším nálezem oligoklonální a monoklonální GP IgG λ . Po TX ledviny byly nejčastěji detekované monoklonální GP IgG κ .

Graf 13 Procentuální zastoupení jednotlivých typů potransplantačních gamapatií (kohorta A, n=1677).



OG = oligoklonální GP, BG = biklonální GP, MG = monoklonální GP,
GK = IgG kappa, GL = IgG lambda, AK = IgA kappa, AL = IgA lambda, MK = IgM kappa, ML = IgM lambda

Pacienti s GP měli signifikantně vyšší věkový průměr v době transplantace o 3,4 roku ($p=0,002$) v porovnání s pacienty bez GP. V podskupinách pacientů s věkem <50, 50-60, 61-70 a >70 let v době TX byly příslušné frekvence výskytu potransplantačních GP 4,8 %, 6,4 %, 9,5 % a 11,4 %.

4.3.2. Současný stav využití SPE a SIFE v potransplantační péči

Pro posouzení aktuálních trendů v indikaci SPE a SIFE u transplantovaných pacientů jsme stanovili procentuální podíl pacientů, u kterých bylo indikováno alespoň 1 vyšetření z celkového počtu transplantovaných ve sledovaném období. Pro každý typ transplantace jsme následně vypočetli průměrný počet vyšetření SPE a SIFE na 1 pacienta a průměrnou dobu mezi jednotlivými vyšetřeními. Ve sledovaném období let 2005–2015 bylo vyšetření SPE a SIFE indikováno před TX u 12,9 % a po TX u 28,1 % z celkového počtu 3652 transplantovaných. Průměrný počet vyšetření na 1 pacienta po transplantaci byl 3,9. Nejčastěji byli vyšetřováni pacienti po TX jater (69 % transplantovaných) s průměrem 0,53 vyšetření na pacienta a rok. Kompletní výsledky uvádíme v tabulce 11.

Tabulka 11 Současný stav využití SPE a SIFE v potransplantační péči u 3652 příjemců transplantátů. Tabulka obsahuje absolutní a relativní počty pro nejčastěji transplantované orgány (kohorta B, n=2624; kohorta C, n=1028).

Parametr	Transplantovaný orgán					
	Srdce	Ledvina	Játra	Ledvina + Játra	Ledvina + Pankreas	Všechny TX*
SPE/SIFE před TX	6 (1,3 %)	88 (4,2 %)	359 (44,3 %)	12 (37,5 %)	5 (1,9 %)	470 (12,9 %)
SPE/SIFE po TX	23 (4,9 %)	395 (19,0 %)	559 (69,0 %)	21 (65,6 %)	30 (11,3 %)	1028 (28,1 %)
Průměrný počet SPE/SIFE po TX na pacienta	1,5	2,4	5,3	9,2	1,7	3,9
Průměrný počet SPE/SIFE po TX na 1 pacienta a 1 rok	0,17	0,2	0,53	0,97	0,15	0,36

*Raritní typy transplantace s příliš nízkým počtem pacientů byly z analýzy vyloučeny (Pankreas, Játra + Srdce, Srdce + Plíce, Multiorgánová TX, Langerhansovy ostrůvky, Srdce + Ledvina, Ledvina + Langerhansovy ostrůvky, Játra + Langerhansovy ostrůvky)

4.3.3. Klinický význam gamapatií po TX

Nález GP byl v Coxově regresním modelu asociován s 6,06-násobně (95% CI 2,51 - 14,64) vyšším rizikem PTLD a 2,61-násobně (95% CI 1,49 - 4,6) vyšším rizikem ztráty štěpu, v porovnání s pacienty bez GP. GP byla dále asociována s 1,99-násobně (95% CI 1,2 - 3,3) zvýšeným rizikem úmrtí (Tabulka 12). Subanalýzu rizika PTLD u pacientů s GP nebylo možné provést separátně pro jednotlivé typy TX z důvodu nízkého počtu případů PTLD v jednotlivých skupinách.

V regresním modelu Fineho a Greye byly výsledky podobné. GP byla asociována s 5,05-násobně (95% CI 1,98 - 12,9) vyšším rizikem PTLD a 2,35-násobně (95% CI 1,30 - 4,28) vyšším rizikem ztráty štěpu. Výsledky z obou modelů jsou adjustovány na věk v době TX. Pěti-, deseti-, dvanácti- a patnáctileté přežití ve skupině pacientů s potransplantační GP bylo 93,7 %, 83,7 %, 65,7 % a 31,0 %. Medián přežití byl 10,6 (IQR 5,1 – 13,3) let.

Tabulka 12 Potransplantační GP jako rizikový faktor komplikací po TX v Coxově regresním modelu, výsledky jsou adjustovány na věk v době TX (kohorta A, n=1677).

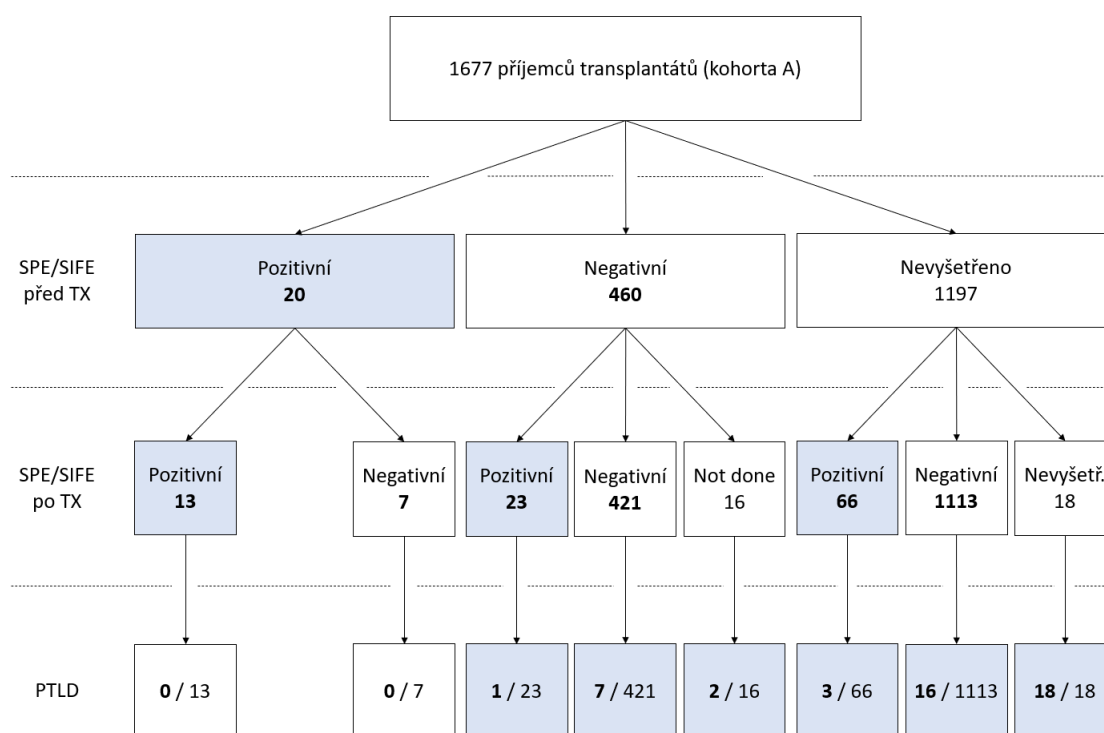
Typ TX*	Komplikace po TX	HR	95 % CI	p
Všechny	PTLD	6,06	2,51 – 14,64	<0,001
	Ztráta štěpu	2,61	1,49 – 4,6	<0,001
	Úmrtí	1,99	1,2 – 3,3	0,008
TX ledviny	Ztráta štěpu	2,95	1,58 – 5,49	<0,001
	Úmrtí	1,87	0,97 – 3,58	0,061
TX jater	Ztráta štěpu	1,93	0,26 – 14,37	0,520
	Úmrtí	1,99	0,80-4,94	0,137

*U ostatních kombinací transplantovaného orgánu a komplikace nebylo možné provést samostatní analýzu pro nízký počet pacientů

4.3.4. Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE pro detekci PTLD

Posttransplantační vyšetření SPE/SIFE bylo do 2 let před diagnózou lymfoproliferace provedeno u 27 pacientů. Z toho byla GP nalezena u 4 pacientů s PTLD (Schéma 3).

Schéma 3 Nález GP před a po TX ve vztahu k následné diagnóze PTLD (kohorta A, n=1677).



PTLD = posttransplantační lymfoproliferativní onemocnění, SPE/SIFE = elektroforéza / imunofixace proteinů séra, TX = transplantace

Výsledek SPE a SIFE byl správně pozitivní ve všech 3 případech mnohočetného myelomu a v 1 případě DLBCL. Ve všech ostatních 23 případech lymfoproliferace (9 DLBCL, 2 T/NK – buněčné lymfomy, 1 Hodgkinův lymfom, 1 Burkittův lymfom, 2 případy chronické B – lymfocytární leukémie/lymfomu z malých lymfocytů, 1 MALT lymfom, 1 lymfom z buněk plášťové zóny, 1 lymfoblastický lymfom, 1 plazmablastický, 3 nespecifikované B – buněčné non-Hodgkinské lymfomy a 1

nespecifikovaný lymfom plic), byl výsledek kombinace metod SPE a SIFE falešně-negativní. Ve 20 případech PTLD nebylo vyšetření SPE/SIFE indikováno. Výsledná diagnostická senzitivita byla 14,8 % a specifická 93,9 % (Tabulka 13). Žádný z 20 pacientů s předtransplantační GP nevyvinul po transplantaci PTLD.

Další analýza zahrnovala pacienty s a bez provedeného vyšetření SPE a IFE po transplantaci. Zjistili jsme, že PTLD byla diagnostikována dříve (2,2 vs. 3,5 roku) a častěji (1,9 vs. 0,6 %), pokud byla SPE / SIFE zahrnuta do potransplantačních vyšetření (Tabulka 14).

Tabulka 13 Diagnostická výtěžnost SPE a SIFE pro detekci PTLD (kohorta A, n=1677)

Parameter	Hodnota (%)	95% CI (%)
Senzitivita	14,8	4,2 – 33,7
Specifičnost	93,9	92,7 – 95,1
Pozitivní prediktivní hodnota	3,9	1,6 – 9,3
Negativní prediktivní hodnota	98,5	98,3 – 98,7

Tabulka 14 Efektivita diagnostiky PTLD u skupiny pacientů, kde SPE a SIFE bylo součástí potransplantačních vyšetření v porovnání se skupinou pacientů kde SPE a SIFE indikováno nebylo (kohorta B, n=2624; kohorta C, n=1028).

Kohorta pacientů	Počet pacientů	Počet diagnostikovaných případů PTLD	Medián (IQR) let mezi TX a diagnózou PTLD
Všichni TX (B + C)	3652	37 (1,0 %)	3,2 (1,3 – 4,7)
TX s vyšetřením SPE/SIFE (C)	1028	20 (1,9 %)	2,2 (1,1 – 4,1)
TX bez vyšetření SPE/SIFE (B)	2624	17 (0,6 %)	3,5 (1,3 – 5,4)

5. Diskuse

Naše sledování bylo zaměřeno na 3 oblasti, které reprezentují tři studie: v první jsme se zabývali incidencí a mortalitou lymfoproliferativních onemocnění u transplantovaných pacientů, cílem druhé studie bylo získat data pro zhodnocení významu laboratorních metod používaných při detekci a monitorování monoklonálních gamapatií u pacientů po transplantaci solidních orgánů a ve třetí studii jsme se zabývali vztahem mezi gamapatiemi a PTLD.

5.1. Incidence PTLD u pacientů po TX solidních orgánů

Vyšší výskyt lymfoproliferativních onemocnění u transplantované populace je již řadu let známým faktem prokázaným v několika rozsáhlých studiích. V literatuře se uvádí incidence rate 1,94/1000 osoboroků [14], lze najít i údaje o kumulativní incidenci v závislosti na transplantovaném orgánu, u příjemců transplantátu srdce 1,0 - 6,3 %, plic 4,2 – 10 %, tenkého střeva 20 %, ledviny 1,0 – 2,3 % a jater 1,0 - 2,8 % [18] [19] [20]. Riziko (vyjádřeno jako SIR, standardized incidence rate) je oproti běžné populaci podle literárních dat 7,5- až 10-násobně vyšší pro lymfoproliferace non-Hodgkinova typu a 3,6-násobně vyšší pro Hodgkinův lymfom [14] [21]. Publikací zaměřených na studium incidence PTLD v České republice je velmi málo. Girman et al. analyzoval soubor 360 pacientů po kombinované TX pankreatu a ledviny. Autoři uvádějí prevalenci PTLD 1,3 %, 5-násobně vyšší než v obecné české populaci [109]. Sečníková et al. uvádí medián času do diagnózy PTLD 8 let v kohortě 603 pacientů po TX srdce [110].

Ve studii 1 jsme prokázali incidenci lymfoproliferativních onemocnění u transplantovaných pacientů na úrovni 1,86 případů/1000 osoboroků (Tabulka 7). V této tabulce pro úplnost uvádíme i data v podobě kumulativní incidence vyjádřené jako incidence risk: všichni transplantovaní celkem 1,4 %, vyšší hodnoty u mužů (1,5 %), u věku pod 18 let (4,5 %) a u TX jater (2,8 %). Tento způsob vyjádření ale vzhledem k různé délce sledování jednotlivých probandů považujeme za méně relevantní.

Námi získaná data jsme porovnali se studií Engelse et al. z roku 2011. Šlo o nejkomplexnější a nejrozsáhlejší práci věnovanou problematice potransplantačních malignit, kdy se spojením dat z několika transplantačních registrů v USA podařilo vytvořit kohortu 175 732 příjemců transplantátů solidních orgánů, u kterých bylo zjištěno 1504 případů PTLD [14]. Tabulka 15 ukazuje srovnání našich dat s těmito literárními údaji (Engels et al., 2011).

Tabulka 15 Srovnání dat získaných v naší studii 1 se studií Engelse et al. [14]

Studie / Charakteristika		Sečnák et al. 2019 *Incidence rate	Engels et al. 2011 *Incidence rate
Všichni TX		1,86 (1,64-2,08)	1,94
Pohlaví	Muži	2,1 (1,84-2,36)	2,14
	Ženy	1,4 (0,97-1,83)	1,65
Věk v době TX (roky)	<18	6,77 (5,79-7,75)	-
	<34	-	2,02
	18-50	1,44 (1,09-1,8)	-
	34-50	-	1,51
	51-60	1,71 (1,3-2,11)	-
	>50	-	2,26
	>60	3,06 (2,63-3,5)	-
TX orgán	Srdce	2,33 (1,78-2,87)	2,83
	Ledvina	1,03 (0,64-1,41)	1,42
	Játra	4,07 (3,71-4,42)	2,17

* Incidence rate je vyjádřeno jako počet případů na 1000 osoboroků (95% CI)

Výsledky obou studií se shodují nejen v celkové incidenci PTLD, ale i v několika dalších klíčových bodech. Je patrná závislost výskytu PTLD na pohlaví s predominancí u mužů. V naší studii bylo pozorované riziko PTLD 1,5-násobně vyšší u mužů než u žen ve všech časových bodech po TX, i když tento rozdíl byl pod hranicí statistické signifikance (HR 1,458; 95 % CI 0,88 – 2,40).

Jedním ze závěrů obou studií je vliv věku v době TX na výskyt PTLD. Nejvíce je ohrožena mladší populace do 18 let a populace příjemců starších než 50 let. Zjistili jsme, že riziko PTLD ve skupině pacientů s věkem v době TX <18 let je 4,7-násobně vyšší (HR 4,69; 95% CI 1,65-13,5) ve srovnání s referenční skupinou (18-50 let). Naše data naznačují i 1,5-násobně vyšší riziko PTLD ve skupině pacientů starších než 60 let v porovnání s referenční skupinou 18-50 let věku v době TX. Nutno zmínit, že tento rozdíl je však pod hranicí statistické signifikance (HR 1,53; 95% CI 0,88-2,67).

Z obou studií je dále zřejmá i závislost incidence PTLD na typu TX orgánu. Důvodem jsou rozdílné protokoly imunosupresivní terapie (vysoké dávky např. při TX srdce, plic, kombinovaných TX), různý obsah lymfatické tkáně ve štěpu, která antigenně stimuluje imunitní systém (mezi štěpy bohaté na lymfatickou tkáň patří např. střevo, plíce, pankreas), nebo nutnost opakovaných transfuzí, které jsou též antigenním stimulem (např. při TX jater) [9] [14] [18] [19] [30]. Na druhé straně při detailnějším porovnání výsledků obou studií jsou patrné rozdíly v incidenci PTLD mezi typy transplantovaných orgánů. U pacientů po transplantaci ledviny a srdce jsme v naší studii zaznamenali mírně nižší incidenci PTLD, naproti tomu u TX jater je incidence výrazně vyšší (Tabulka 15) než ve studii Engelse et al. Podobné výsledky uvádí i Opelz et al., autoři zjistili nejvyšší incidenci PTLD u TX srdce a plic, následovanou TX jater a pankreatu [24]. Uvedená data mohou naznačovat suboptimální nastavení screeningu PTLD u příjemců transplantátů ledvin a srdce v IKEM. Tuto hypotézu podporuje i naše analýza požadování vyšetření SPE a SIFE klinickými pracovišti v potransplantačním období (Tabulka 11).

Pro lepší orientaci v klinické praxi lze data pozorovaná při analýze rizika rozvoje PTLD (model kompetujících rizik podle Fineho a Greye) v závislosti na věku, pohlaví a TX orgánu (Grafy 4, 5 a 6) shrnout do dvou modelových situací:

- Pacient s nejvyšším rizikem rozvoje PTLD: muž, po TX jater, srdce, nebo kombinované TX, věk v době TX do 18 let
- Pacient s nejnižším rizikem rozvoje PTLD: žena, po TX ledviny, věk v době TX mezi 18-50 lety

Řada autorů uvádí, že výskyt PTLD je bimodální, první peak je v prvním roce po TX následovaný poklesem v 2. – 4. roce a s fází plateau po 5. – 6. roce po TX [14] [18] [19] [55] [54]. Tato distribuce odráží dva hlavní typy PTLD (early onset a late onset PTLD), které se kromě doby nástupu liší i z hlediska rizikových faktorů a etiologicky. Early onset PTLD (peak v prvním roce po TX) je typicky EBV-asociovaná, hlavním patofyziologickým podkladem je EBV infekce. Nejvyšší riziko jejího rozvoje je u EBV naivních dárců a logicky tedy lze předpokládat, že její výskyt bude nejvyšší v mladší populaci (děti a adolescenti) [9]. Naproti tomu late-onset PTLD je EBV-neasociovaná, hlavním patofyziologickým podkladem je chronická antigenní stimulace a dlouhodobě snížený protinádorový imunitní dohled. Její incidence je v průběhu prvních deseti let po TX rovnoměrněji distribuována [9] [54] [55] [56] [57]. Z našich dat je tato bimodální distribuce výskytu PTLD patrná a nejvyšší počet PTLD (18 % všech případů) bylo diagnostikováno v 1. roce po transplantaci (Graf 3). To je částečně v souladu s předchozími studiemi, podle dostupné literatury by však rozdíl mezi 1. rokem po TX a dalšími lety měl být ještě výraznější a podíl early-onset PTLD na celkovém počtu lymfoproliferací ještě vyšší (v naší studii cca 24 % všech případů) [14] [18] [19] [22]. Za hlavní důvod považujeme disproporci v demografickém složení sledované populace, která vyplývá z primárního zaměření Transplantačního centra IKEM na dospělou populaci. Naše data obsahují jen malou část pediatrické populace (děti pod 10 let věku v době transplantace tvoří 0,9 % celého souboru), pro kterou je časný výskyt lymfoproliferace typický.

Distribuce histopatologických typů PTLD v našem souboru 78 pacientů je uvedena v grafu 7. Data potvrzují převahu monomorfních PTLD a B – buněčných non-Hodgkinských lymfomů známou z předchozích prací. Nejčastějším histopatologickým typem PTLD byl v naší studii difuzní velkobuněčný lymfom (40 %), což je rovněž v souladu s výsledky jiných studií [18] [19] [20].

V porovnání s jinými studiemi jsme zachytili nízký počet méně agresivních polymorfních PTLD (4 %) a PTLD charakteru early lesion (5 %). Bishnoi uvádí jejich

zastoupení na celkovém počtu lymfoproliferací až 19 % pro polymorfní a 8 % pro early lesion PTLD [20]. Tyto formy jsou často klinicky méně vyjádřené, můžou však představovat riziko rozvoje agresivnější lymfoproliferace. Uvedenou diskrepanci tedy lze chápat jako další argument pro revizi aktuálně nastavených postupů v potransplantačním screeningu PTLD.

Zajímavým nálezem v našem souboru 5667 transplantovaných jsou 4 případy potransplantačního mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymfomu. Této velmi vzácné klinické jednotce (celosvětově publikováno jen přibližně 20 případů tohoto onemocnění) se věnuje literární přehled kolektivu autorů Aullové et al [111]. Potransplantační MALTom pochází z B – lymfocytů a je typicky méně agresivní než jiné typy PTLD. Nejčastěji se vyskytuje v 5.-7. roce po TX a jeho incidence u transplantované populace je až 100-násobně vyšší než u netransplantovaných. Autoři uvádějí, že ve většině případů vede konzervativní terapie pomocí eradikace *Helicobacter pylori* a úpravy imunosupresivního režimu k regresi onemocnění. Na druhé straně z důvodu možné progresy MALTomu do high-grade lymfomu je nezbytné sledování průběhu onemocnění pomocí gastroskopie a následného histopatologického vyšetření bioptované tkáně.

Jak již bylo zmíněno, zjištěná incidence lymfoproliferativních onemocnění u transplantovaných pacientů byla 1,86 případů/1000 osoboroků. Naproti tomu průměrná roční incidence v obecné české populaci (0,37/1000 osob ve sledovaném období let 1995-2015) poukazuje na výrazně vyšší riziko lymfoproliferace u transplantovaných pacientů. Je zřejmé, že uvedené srovnání není metodicky optimální. Nicméně v době sběru dat pro tuto část studie nebyly údaje o výskytu lymfoproliferací standardně dostupné v NOR ÚZIS ČR (byly poskytnuty na vyžádání až s určitým časovým odstupem několika měsíců) a nebylo proto možné provést srovnání na základě parametrů s vyšší výpovědní hodnotou, jako je například standardized incidence ratio. Vzhledem k uvedenému jsme se rozhodli další pozornost věnovat málo objasněnému vztahu mezi GP a PTLD a možnosti využití

laboratorních vyšetření pro včasnou detekci a prevenci PTLD, kterou z hlediska využití v klinické praxi považujeme za nejzajímavější část studie.

5.2. Mortalita pacientů s PTLD

Lymfoproliferativní onemocnění v potransplantačním období je spojeno s výrazně horší prognózou. Opelz uvádí 5letou mortalitu pro pacienty s PTLD po TX ledviny 50–60 %, po TX srdce 60–70 % [24]. V naší studii bylo 5-leté přežití po TX u pacientů s lymfoproliferací na úrovni 50 % (Graf 8). Pozornému čtenáři neunikne nezvykle hladký průběh křivky přežívání v tomto Kaplan-Meierově grafu. Je to důsledek velkého počtu sledovaných probandů (soubor 5667 pacientů po TX).

V Coxově regresním modelu bylo riziko úmrtí u pacientů s PTLD 2-násobně vyšší v porovnání s transplantovanou populací bez PTLD, nezávisle na věku pacienta. Nejvyšší riziko měli pacienti bezprostředně po diagnóze PTLD (HR 5,07; 95% CI 2,66–12,2) s následným poklesem o 11 % za rok v dalších letech.

Úspěšnost terapie a přežívání pacientů s PTLD jsou výrazně závislé především na typu lymfoproliferace a na stadiu rozvoje, ve kterém se onemocnění podaří diagnostikovat. Studie provedená Bishnoi et al. se věnovala prognóze PTLD v závislosti na různých faktorech. S horší prognózou bylo spojeno ženské pohlaví, vyšší věk v době diagnózy PTLD, monomorfní typ, infiltrace kostní dřeně a EBV-negativní sérostatus příjemce [20]. Koff et al. uvádí přežití pro jednotlivé typy PTLD. Nejlepší prognózu má podle autorů polymorfní PTLD s 5letým přežitím 70 %, nejhorší prognózu má Burkittův lymfom a T/NK – buněčné lymfoproliferace s přežitím jen 30 %. Pro ostatní typy B – monomorfních lymfomů uvádějí autoři 5-leté přežití 50–60 %. Autoři dále uvádějí, že mortalita výrazně klesla od roku 2000 po zavedení rituximabu do terapie, a to zejména u Hodgkinova lymfomu. Vysoká mortalita T – buněčných PTLD nebyla tímto novým lékem ovlivněna [27].

Subanalýza našich dat u jednotlivých histopatologických typů PTLD ukazuje nejlepší přežití pro lymfomy typu „early lesion“ (100% přežívání 15 let po TX). Na druhé

straně spektra se nachází monomorfní PTLD z B –, nebo T/NK – lymfocytů s přežitím 40 – 60 % podle konkrétního typu. Mimořádně špatnou prognózu a vysokou mortalitu měli v naší kohortě pacienti s plasmocelulárním typem PTLD, kde šestého roku po TX se nedožil žádný ze sledovaných probandů s tímto onemocněním (Graf 9). Vzhledem k tomu, že data o terapii PTLD jsme neměli k dispozici, nebylo možné posoudit vliv jednotlivých terapeutických strategií na prognózu pacientů.

Je důležité zmínit, že z důvodu nedostatku větších prospektivních studií jsou v současnosti hlavním zdrojem epidemiologických informací o incidenci a mortalitě PTLD především retrospektivní studie a velké transplantační registry, což může mít za následek jisté podhodnocení dat. V ČR aktuálně neexistuje společný transplantační registr, který by systematicky shromažďoval data z jednotlivých transplantačních center. Každé pracoviště disponuje svým registrem dat a populační data včetně incidence a mortality lymfoproliferativních nemocí shromažďuje NOR ÚZIS.

5.3. Transplantace srdce

TX srdce představuje zajímavou oblast proto, že je spojeno s intenzivní imunosupresí a literárně popsaným vyšším výskytem PTLD na straně jedné, na straně druhé jde o skupinu pacientů, u kterých absenteje systematický screening tohoto onemocnění pomocí metod pro detekci GP.

5.3.1. Dynamika FLC po TX srdce

Změny koncentrace FLC κ a λ mají v období po TX srdce podobný průběh, přičemž dynamika FLC κ je výraznější. V 9. měsíci po TX srdce je patrný pokles koncentrace FLC κ téměř o 40 % v porovnání s bazální hodnotou (Grafy 10 a 11).

V následujících 15 měsících koncentrace FLC stoupá, do konce sledovaného období však nedosahuje předtransplantačních hodnot. Uvedený profil změn koncentrace FLC je statisticky významný (Friedmanův test, $p < 0,001$) a kopíruje změny v dávkování imunosupresivní terapie. Období prvních 9 měsíců po TX srdce je charakteristické

nejvyššími dávkami a rezultující plazmatickou koncentrací takrolimu (Tabulka 5). Kombinace více imunosupresivních léků a vysokodávkového režimu může tedy již v časném potransplantačním období vytvářet základ pro pozdější lymfoproliferativní onemocnění. Je pozoruhodné, že změny v FLC λ byly většinou v referenčním intervalu.

5.3.2. Výskyt gamapatií po TX srdce

V souboru 96 pacientů jsme během dvou let po TX srdce pomocí metody SPE a SIFE identifikovali vysoký počet monoklonálních, biklonálních a oligoklonálních GP. Abnormální elektroforeogram byl přítomný u 16 (17 %) z 96 vyšetřených pacientů. Většina těchto nálezů vykazuje nízkou koncentraci monoklonálního imunoglobulinu (1-12 g/l) a je tranzientní. Naše výsledky jsou v souladu s publikovanými daty z předchozích studií u pacientů po TX srdce [85] [112]. Patologie detekované metodou SFLC byly ještě častější (25 % testovaných) a měly většinou také přechodný charakter. Za zmínku stojí, že patologický poměr FLC κ / λ byl převážně způsoben abnormální koncentrací řetězce κ , což je v souladu s výraznější dynamikou jeho změn (Graf 10).

5.3.3. Výpovědní hodnota vyšetření SPE, SIFE a SFLC po TX srdce

Z výsledků je zřejmé, že mezi GP detekovanými metodou SPE, SIFE a SFLC je jen velmi nízká úroveň shody. Klinicky nejvýznamnější a nejvíc patrné jsou rozdíly v případě nálezů monoklonální produkce imunoglobulinu jednou z metod (Tabulka 8). Z výsledků studie provedené Engelsem u pacientů po TX jater a krvetvorných buněk vyplývá, že přibližně 83 % GP z intaktních imunoglobulinů má normální poměr FLC κ / λ [84]. Naše data ukazují, že procento rozdílných nálezů je u pacientů po TX srdce ještě vyšší. V podskupině 19 nálezů monoklonálního nebo biklonálního imunoglobulinu, zjištěného metodou SPE a SIFE, nebyl patologický poměr FLC κ / λ přítomný ani jednou, 5 případů vykazovalo izolovaně zvýšenou koncentraci řetězce κ nebo λ , ve 2 případech bylo přítomné polyklonální zvýšení obou FLC a ve zbylých 12 případech jsme našli normální koncentrace i poměr FLC κ / λ .

5.4. Multifaktoriální etiologie poruch syntézy FLC po TX srdce

Asociace mezi vyšší incidencí PTLD u pacientů s gamapatií byla publikována více autory [84] [92] [93] [94] [95]. Zatím však chybí důkazy o původu cirkulujících klonálních imunoglobulinů, nebo jejich fragmentů v nádorových buňkách, častým jevem je i neshoda mezi typem cirkulujícího imunoglobulinu a klonální restrikcí nádorových buněk [80] [93].

Většina z 34 nálezů patologického poměru FLC κ / λ u pacientů po TX srdce byla v našem souboru provázena negativním nálezem SPE a SIFE (Tabulka 8) a měla tranzientní charakter (Tabulka 9). Vzhledem k uvedenému je proto možné je připsat aktuální nerovnováze v syntéze jednoho z lehkých řetězců bez dalšího vývoje a klinické relevance. Předpokládáme, že tento jev je částečně způsoben přímým účinkem imunosuprese. Tento závěr podporuje i fakt, že nejvyšší počet případů patologického poměru FLC κ / λ (14 ze 34) se vyskytl v 9. měsíci, kdy byly koncentrace takrolimu nejvyšší (Tabulka 5).

Jako klinicky významný hodnotíme nález u 3 pacientů s dlouhodobě přetrvávající patologií poměru FLC κ / λ a normálním elektroforeogramem i imunofixací séra. Podle řady autorů je abnormální poměr FLC κ / λ nezávislým rizikovým faktorem progresu do maligní GP [113] a je součástí doporučeného modelu pro stanovení prognózy MGUS [90]. Předpokládáme, že tito 3 pacienti mohou mít vyšší riziko PTLD a měli by být pravidelně vyšetřováni pro posouzení dalšího vývoje a včasný záchyt případné PTLD.

Převahu polyklonálních GP mezi patologiemi detekovanými metodou SFLC, která byla dříve publikována u příjemců transplantátů jater a krvetvorných buněk [84], jsme po TX srdce nezaznamenali. Polyklonální elevace FLC se v našem souboru vyskytla jen u 3 % z 274 testovaných vzorků. Rozdíl ve výsledcích může být způsoben agresivnějším imunosupresivním režimem používaným po TX srdce. Aull uvádí, že 69 % případů PTLD po TX srdce má monoklonální charakter [25]. Polyklonální zvýšení FLC je navíc spíše spojeno s aktivací imunitního systému při zánětu nebo provází srdeční selhání [114] [115]

a mohlo by být kandidátním markerem jiných potransplantačních komorbidit, jako je infekce nebo rejekce štěpu.

5.5. Renální insuficience a poměr FLC κ / λ

Jedním z patofyziologických mechanismů vedoucích k abnormálnímu poměru FLC κ / λ je renální insuficience. Snížení glomerulární filtrace způsobuje predilekčně zvýšení řetězců κ , což má za následek zvýšení poměru FLC κ / λ nad standardní referenční rozmezí [75]. U netransplantovaných pacientů byly proto stanoveny specifické „renální“ meze pro koncentrace a poměr FLC κ / λ [106]. Snížená renální funkce je po orgánových transplantacích relativně běžným jevem. Jak je uvedeno výše, v souboru pacientů po TX srdce jsme našli abnormální poměr FLC κ / λ způsobený převážně zvýšením řetězců κ . Na základě uvedeného by tyto meze měly být používány pro hodnocení výsledků SFLC po TX. Při hodnocení dat pacientů po TX srdce jsme upravené renální rozmezí použili v případě, kdy eGFR byla pod 1,0 ml/s na 1,73 m², což vedlo ke značnému snížení neshodných nálezů mezi SPE, SIFE a SFLC. Pokud je nám známo, žádná z předchozích studií tyto specifické rozsahy nezohlednila [84] [92] [94] [95].

Někteří autoři na základě studií pacientů po TX ledvin dospěli k závěru, že měření SFLC není vhodné pro diagnostiku PTLT z důvodu časté renální dysfunkce [95] [94]. Ačkoli metody SPE a SIFE nejsou ovlivněny funkcí ledvin, naše data naznačují, že některé pacienti se zvýšeným rizikem PTLT lze identifikovat pouze pomocí SFLC. Interpretační nejasnosti je v případě snížené glomerulární filtrace, navíc možné efektivně vyřešit použitím „renálních“ referenčních rozsahů.

5.6. Frekvence a první výskyt gamapatií po TX solidních orgánů

Potransplantační GP jsme našli u 6,4 % příjemců transplantátů solidních orgánů (Tabulka 10), což je výrazně vyšší výskyt v porovnání s běžnou populací (prevalence 3,2 %) [116]. Údaje z jiných studií transplantované populace jsou poměrně heterogenní, GP byla nalezena u 25-50 % pacientů po TX srdce, 21-44 % pacientů po TX jater a 0,6 - 25 % pacientů po TX ledvin. Z našich dat vyplývá, že frekvence GP se zvyšovala úměrně s

věkem ze 4,8 % ve věkové skupině <50 let na 11,4 % ve skupině pacientů starších než 70 let v době TX. Podobný trend byl jinými autory pozorován u transplantované [85] [86] [88], i netransplantované populace [116].

Nejběžnějším typem v našem souboru byla monoklonální GP izotypu IgG (Graf 13). Podíl různých typů GP se nelišil od předchozích publikací [83] a byl srovnatelný s daty z netransplantované populace [116]. Zajímavostí je vysoká frekvence GP typu IgM (11 %) v našem souboru, která je charakteristická nejvyšším rizikem progresu do PTLT [89].

Většina GP se vyskytla již v prvních třech letech po TX. Výskyt GP lze rozdělit do tří fází: fáze výrazného počátečního nárůstu v prvním roce, fáze plateau ve druhém a třetím roce, následovanou stabilním pozvolným nárůstem počtu GP v příštích několika letech po TX (Graf 12). Trend byl pozorován u pacientů s TX ledvin, jater i srdce a je pravděpodobně důsledkem kombinace účinků imunosupresivní terapie a zvyšujícího se věku pacientů.

5.7. Klinický význam gamapatií v transplantované populaci

Podle dostupných literárních údajů není předtransplantační GP spojena se zvýšeným rizikem potransplantační lymfoproliferace [77] [79] [88] [96] [104]. Tato data jsou v souladu s našimi výsledky, ve skupině pacientů s předtransplantační GP jsme nezjistili žádný případ PTLT. GP před TX je podle některých autorů spojena spíše s nemaligními komplikacemi, jako je žilní trombóza a infekce [104], a sníženým přežitím po TX [88].

Domníváme se, že screening GP by měl být zahrnut do předtransplantačních vyšetření zejména u skupiny pacientů starších 50 let. Avšak po vyloučení lymfoproliferace a etiologického vztahu mezi klonální komponentou a selháním orgánů (např. AL amyloidóza nebo depozice lehkého řetězce) by neměla být předtransplantační GP považována za kontraindikaci TX. U pacientů s předtransplantační GP je vhodné se v rámci potransplantačního monitoringu zaměřit na nezhoubné komplikace.

Zjistili jsme, že na rozdíl od předtransplantační GP, jsou potransplantační GP významným rizikovým faktorem pro všechny zkoumané komplikace. Tato asociace byla nezávislá na věku nebo pohlaví (Tabulka 12). Je důležité zdůraznit, že doposud bylo na toto téma publikováno velké množství protichůdných dat. Asociace mezi GP a PTLD byla dříve nalezena u příjemců transplantátů ledvin, srdce i jater [77] [80] [85] [89] [102]. Na druhou stranu však existuje řada studií, které tento vztah neprokázaly [79] [83] [98] [99] [100].

V našem souboru 1677 příjemců transplantátů lze zjištěné potransplantační GP rozdělit do 3 typů:

- Prvním typem jsou tranzientní GP, které tvoří přibližně jednu třetinu případů. Jsou přítomny po omezenou dobu, a pravděpodobně odrážejí nerovnováhu mezi regulačními mechanismy T – lymfocytů a B – lymfocytů vyvolanou infekcí, nebo změnami v imunosupresivní medikaci [92]. Tyto GP mají omezený klinický význam. V průběhu sledovaného období jsme u žádného z pacientů s tranzientní GP nezaznamenali progresi do PTLD, tudíž nelze předpokládat jejich asociaci s maligní lymfoproliferací. Jejich výskyt v netransplantované populaci je často spojen s virovými, nebo autoimunitními onemocněními.
- Druhým typem jsou perzistentní GP s charakterem MGUS anebo asymptomatického (doutnajícího) myelomu, tvoří 63 % všech zachycených GP. Pacienti s perzistentní GP mají zvýšené riziko rozvoje PTLD, ztráty štěpu a snížené přežívání. Při nálezů GP by měla být provedena stratifikace jejího rizika [91] [117] a podle výsledku by měl být stanoven další postup [77] [80] [91] [117]. Uvažovali jsme, zda by vztah mezi GP a ztrátou štěpu mohl být vysvětlen dysregulovanou produkcí imunoglobulinu, která má za následek humorální rejekci štěpu. Za povšimnutí stojí především silná asociace GP se ztrátou transplantované ledviny. Tento jev je v souladu s tzv. monoklonální gamapatií s renálním významem (z angl. "monoclonal gammopathy of renal significance" - MGRS), což je jednotka popsána u transplantovaných [87] i netransplantovaných

pacientů [118]. Patofyziologickým podkladem je nefropatie způsobená klonálním imunoglobulinem, nebo jeho částí (těžký nebo lehký řetězec).

- Třetím zachyceným typem jsou perzistentní GP provázející rozvinutou lymfoproliferaci z plazmatických buněk nebo jinou PTLD. Jedná se o klinicky nejzávažnější a nejméně běžný typ GP (4 %). Většina z těchto pacientů měla plazmocelulární dyskrázii vyžadující okamžitou navazující diagnostiku a terapii.

5.8. Možnosti laboratorního screeningu PTLD u pacientů po TX solidních orgánů.

Otázka způsobu identifikace vysoce rizikových pacientů a efektivního screeningu PTLD dosud není jednoznačně vyřešena. Klíčovým problémem je, že dosud nebyla nalezena odpovídající screeningová metoda, která by se vyznačovala potřebnou senzitivitou, specifíčností a praktickou použitelností pro opakované vyšetřování pacientů po transplantaci.

Histopatologické a molekulárně biologické vyšetření biotického vzorku je nepostradatelné pro stanovení definitivní diagnózy PTLD. Je ale zřejmé, že jeho vysoká invazivita a zátěž pacienta brání využití v rámci pravidelného screeningu. Jinou možností je monitorování virové nálože EBV v periferní krvi. Byla nalezena asociace mezi přítomností EBV DNA v periferní krvi a následným rozvojem PTLD s možností predikce rizika lymfoproliferace [48]. Screening pomocí PCR metody pro detekci EBV DNA je však poměrně kontroverzní a nelze ho jednoznačně doporučit [20] [63] [64] [65]. Problémem této metody je nízká diagnostická senzitivita, nezanedbatelný počet EBV-negativních PTLD (23 % všech PTLD, 40 % T – lymfocytárních PTLD a 45 % late-onset PTLD) [18] [19] [53] [66], absence standardizace a chybění jednotného cut-off pro zvýšené riziko rozvoje PTLD.

Nejkonzistentnější informace v tomto směru poskytuje společný dokument Britské transplantologické společnosti a Britské hematologické společnosti. Guidelines nabízejí praktická doporučení pro monitoraci pacientů po TX, včetně vyšetření EBV DNA metodou PCR a sérologického vyšetření EBV infekce [18]. Autoři uvádějí, že u pacientů

s primární EBV infekcí po TX je nutné vždy pomýšlet na vyšší riziko PTLD a měli by být důsledněji sledováni se zaměřením na tuto diagnózu. Doporučení ale odrazují od rutinního sledování virové nálože EBV jako nástroje pro screening PTLD (třída doporučení B, úroveň 3). Další možností, jak identifikovat pacienty se zvýšeným rizikem lymfoproliferace v potransplantačním období, je využití metod pro detekci poruch syntézy imunoglobulinů jako jsou SPE, SIFE a SFLC. Odůvodnění tohoto postupu tkví v nalezení asociace mezi GP a PTLD, což bylo cílem více dosavadních studií s často protichůdnými výsledky a závěry.

Obecně lze říct, že GP lze detekovat v 50-86 % případů PTLD [77] [80] [82] [85] [89]. Využití SPE a SIFE ve screeningu PTLD podporují i výsledky prospektivní studie publikované Lemoineovou et al. Autoři analyzovali data od 911 příjemců štěpu jater. Studie se vyznačovala rigorózním protokolem, který zahrnoval pravidelné sledování pacientů před i po TX se zaměřením na přítomnost GP (SPE, SIFE) a lymfoproliferace (fyzikální vyšetření, USG uzlin, CT, histopatologické vyšetření biopsované tkáně v případě nálezů lymfadenopatie). GP byla nalezena u 114 pacientů, z toho 18 následně rozvinulo PTLD. Autoři prokázali 65,3-násobně zvýšené riziko PTLD spojené s přítomností GP [77].

V rozporu s uvedenými daty jsou výsledky retrospektivní studie publikované Jimenez-Zepedou et al. Autoři analyzovali velkou kohortu 1593 pacientů před a po TX jater, ledvin a pankreatu. I když byla zjištěna zvýšená incidence hypergamaglobulinémie před transplantací jater (76 % pacientů) a zvýšená celková incidence MGUS u TX pacientů (3 %), asociace GP s PTLD nebo se sníženým přežíváním po TX prokázána nebyla. Na základě výsledků autoři nedoporučují pravidelné vyšetřování TX populace metodou SPE, nebo SIFE [79].

Asociace mezi abnormalitami FLC a PTLD byla zkoumána Engelsem et al. ve studii případů (29 pacientů s PTLD) a kontrol (57 pacientů po TX bez PTLD). Skupina s PTLD se vyznačovala o 50 % vyšším průměrem koncentrací FLC κ i λ a signifikantně častější polyklonální FLC gamapatií (odds ratio 4,2) již 3,5 měsíce před diagnózou PTLD.

Přítomnost abnormálního poměru FLC κ / λ (monoklonální typ) byla sice u pacientů s PTLD častější (odds ratio 3,0), výsledky ale nedosáhly statistické significance (95% CI 0,5-18) [92]. Podobné závěry publikovala i Kuhnová et al., ve studii 169 příjemců transplantátů byla u pacientů s PTLD nalezena častější monoklonální a polyklonální elevace FLC [82].

Protichůdné výsledky publikoval Fernando et al. ve studii případů (10 pacientů s PTLD) a kontrol (46 pacientů po TX bez PTLD) u pacientů po TX ledviny. Autoři nezjistili statisticky signifikantní rozdíl mezi dvěma skupinami v koncentraci FLC ani v počtu případů s abnormálním poměrem FLC κ / λ [94].

V naší studii souboru 1677 pacientů po orgánových TX se nám podařilo asociaci mezi GP a PTLD jasně prokázat. Nález GP pomocí SPE a SIFE je spojen se statisticky signifikantním, 6-násobně zvýšeným rizikem rozvoje PTLD v pozdějším období, bez ohledu na použitý statistický model. Metoda SPE a SIFE je považována za zlatý standard pro detekci GP a využívá se jako diagnostický a screeningový nástroj i u netransplantované populace [117].

V případě zamýšleného použití těchto metod pro screening PTLD v transplantované populaci je nezbytné znát jejich diagnostickou výtežnost, v této indikaci je klíčovým parametrem zejména jejich senzitivita. V našem souboru jsme se pokusili o vyhodnocení diagnostické výtežnosti SPE a SIFE pro diagnostiku PTLD. Tento záměr byl komplikován retrospektivním designem studie a nekonzistentní a nepravidelnou indikací SPE a SIFE po TX. V kombinaci s nízkou prevalencí PTLD to vedlo k velmi nízkému počtu pacientů s dostupným výsledkem SPE a SIFE, i když byla data rozšířena také o výsledky vyšetření provedených do dvou let před diagnózou PTLD. Celkem byl výsledek vyšetření SPE/SIFE k dispozici jen u 27 ze 47 pacientů s PTLD (Schéma 3). Uvědomujeme si, že naše vstupní data nejsou pro tento typ analýzy optimální. Výsledky jsme se však rozhodli publikovat, protože podobná data se v dosud publikované literatuře nevyskytují.

V naší kohortě byla GP detekována jen u 4 pacientů s PTLD, výsledkem tedy byla senzitivita na úrovni 14,8 % (Tabulka 13, Schéma 3). Tento výsledek odrazuje od použití kombinace SPE a SIFE jako jediné, univerzální screeningové metody. Je ale potřebné uvést, že v předchozích studiích byla přítomnost GP u pacientů s PTLD vyšší, než jsme pozorovali v naší kohortě, pohybovala se mezi 50–86 % [77] [80] [82] [85] [89]. Vysvětlení může spočívat v častějším vyšetřování pacientů [80] [82] [89], využití citlivější UIFe [89] nebo prospektivním designu se systematickým provedením SPE v intervalech 6-12 měsíců u všech pacientů [77]. Dalším důvodem může být kompromis v podobě rozšíření intervalu pro zahrnutí výsledků SPE a SIFE na 2 roky před diagnózou PTLD z důvodu nízkého počtu pacientů s výsledkem v době diagnózy PTLD. Tento postup nám sice umožnil výpočet parametrů diagnostické výtěžnosti, ale zároveň pravděpodobně způsobil falešné zhoršení zjištěné senzitivity.

Je zřejmé, že hlavním úskalím využití metod detekce GP pro screening lymfoproliferace je, že ne všechny PTLD jsou spojeny s klonální produkcí imunoglobulinu, nebo jeho části. Zdá se tedy logické rozdělit pacienty s PTLD do následujících podskupin z důvodu jejich odlišného charakteru.

PTLD z plazmatických buněk a potransplantační MGUS

Existuje jen velmi omezený počet studií zaměřených na toto téma. Z publikovaných výsledků vyplývá, že lymfoproliferace z plazmatických buněk tvoří 4 % všech PTLD a jsou ve většině případů spojené s negativitou vyšetření PCR na přítomnost EBV DNA [119] [120] [121] [122].

V naší kohortě 1677 transplantovaných se vyskytly pouze 3 případy PTLD z plazmatických buněk. Gamapatie charakteru MGUS a asymptomatického myelomu byla detekována u 72 pacientů, což je 4,3 % všech testovaných pacientů. Tyto nosologické jednotky nepatří mezi PTLD, ale představují zvýšené riziko jejího pozdějšího rozvoje.

Podle literárních dat poskytují metody SPE, SIFE, SFLC a UIFe různou diagnostickou informaci a některé vysoce rizikové GP zachytí pouze jedna z metod [89]

[90] [92] [113] [123] [124] [125]. V naší prospektivní studii jsme na základě výsledků analýzy souboru 96 pacientů po TX srdce dospěli k podobnému závěru, kde nejvyšší výpovědní hodnotu měla kombinace SPE, SFIE a SFLC.

Ve druhé analyzované kohortě 1677 transplantovaných zase metoda SPE, SIFE detekovala monoklonální GP u všech 3 pacientů s plazmocelulární PTLD, což naznačuje vysokou senzitivitu pro toto onemocnění. Vyšetření SFLC a UIFIE u těchto pacientů indikována nebyla. Podrobná analýza souboru 1677 příjemců transplantátů ukazuje výrazné rozdíly mezi indikačními zvyklostmi na jednotlivých transplantčních klinikách IKEM. Největší kontrast představují pacienti po TX srdce, kteří jsou na přítomnost GP vyšetřováni jen velmi zřídka (Tabulka 11), ale mají nejvyšší frekvenci GP (15,4 %) ze všech transplantovaných (Tabulka 10) Vysoký výskyt GP u TX srdce je důsledkem obecně agresivnějšího imunosupresivního režimu v porovnání například s pacienty po TX ledviny nebo TX jater. Metody UIFIE a SFLC se v současné době v rámci potransplantačních vyšetření prakticky neindikují vůbec.

Z našich pozorování i z literárních dat je zřejmé, že výpovědní hodnota SPE, SIFE, SFLC a UIFIE se doplňuje. Kombinace těchto metod vykonávaná v pravidelných intervalech je velmi efektivní při hledání MGUS a PTLD z plazmatických buněk. Strategie založená na pravidelném vyšetřování transplantované populace s cílem identifikace maligních GP by proto měla být součástí potransplantační péče.

Non-plazmocelulární PTLD

Nejběžnějšími PTLD v potransplantačním období jsou non-Hodgkinské lymfomy, zejména DLBCL, které jsou spojeny s GP detekovatelnou SPE a SIFE pouze v 7 % případů [126]. Jedním z důvodů může být nízká citlivost SPE a SIFE pro detekci GP, které se nevyznačují přítomností celé intaktní molekuly imunoglobulinu, ale jen jejího lehkého řetězce [123] [124]. Možným řešením je kombinace SPE a SIFE s metodami SFLC a UIFIE, které mají pro detekci klonálních cirkulujících lehkých řetězců mnohem vyšší citlivost.

Ve studii provedené Martinem u 208 pacientů s NHL bylo 19 (9 %) pacientů pozitivních pouze metodou SFLC, 20 (10 %) pacientů bylo pozitivních pouze SPE/SIFE a 7 (3 %) pacientů mělo GP detekovatelnou oběma metodami [69]. V jiné studii provedené Maurerem byl patologický poměr SFLC nalezen u 41 (14 %) z 295 analyzovaných případů DLBCL [70].

Vyšetření SFLC lze využít i pro stanovení prognózy onemocnění a monitoraci úspěšnosti terapie non-plazmocelulárních lymfoproliferací. V této indikaci jde například o monitoraci lymfomu z buněk plášťové zóny [67] [68] [71], difuzní velkobuněčný lymfom [70] [72] [73] a chronickou lymfatickou leukémií [69] [74].

Řada autorů již zkoumala potenciální význam SFLC pro diagnostiku PTLD, publikované výsledky jsou však poměrně heterogenní. Engels zjistil, že zvýšené hladiny SFLC jsou spojeny s následným rozvojem PTLD [92], tento závěr však v další studii provedené Fernandem nebyl potvrzen [94]. Při hodnocení výsledků kohorty 169 transplantovaných pacientů Kuhnová dospěla k závěru, že kombinace SPE a SFLC je užitečným nástrojem pro screening PTLD [82]. Při řešení této problematiky je také nezbytné vzít do úvahy fakt, že některé monoklonální lehké řetězce mohou být detekovány výlučně v moči, pouze pomocí metody UIFÉ [90] [123] [124]. Badley uvádí, že až u 42 % PTLD byla přítomna GP lehkého řetězce, který byl detekován UIFÉ, ale nikoli pomocí SPE / SIFE v séru pacientů [89].

SPE a SIFE tedy zřejmě nejsou dostatečně citlivými metodami, aby mohly být použity jako jediný univerzální nástroj pro screening neplazmocelulárních PTLD (Tabulka 13, Schéma 3). Algoritmus využívající kombinaci SPE, SIFE, SFLC a UIFÉ však může pomoci identifikovat pacienty v riziku rozvoje PTLD, případně podnítit indikaci specializovaného hematologického vyšetření a tím zkrátit dobu do stanovení diagnózy lymfoproliferace.

5.9. Východiska navrhovaného algoritmu pro screening PTLD

Z dat transplantačního centra IKEM vyplývá, že příjemci transplantátů jsou jen zřídka vyšetřeni jednou z metod pro detekci GP. SPE a SIFE byly provedeny jen u 12,9 % pacientů před TX a 28,1 % pacientů po TX (Tabulka 11). Vyšetření SFLC a UIFÉ jsou využívány jen velmi zřídka, v analyzovaném souboru 3652 transplantovaných šlo o jednotky pacientů.

Tato statistika je v ostrém kontrastu s pozorovaným klinickým významem nálezu GP po TX, která je asociována s výskytem PTLD, ztrátou alograftu i vyšší mortalitou (Tabulka 12). V rámci jedné ze subanalýz jsme se proto pokusili odhadnout, jaký dopad na záchyt PTLD by mělo doplnění SPE a SIFE do pravidelného potransplantačního monitoringu. Porovnali jsme výskyt PTLD a čas od TX do stanovení diagnózy PTLD u skupiny příjemců transplantátů, kteří měli po transplantaci provedeno vyšetření SPE a SIFE se skupinou, kde bylo SPE a SIFE z potransplantačních vyšetření vynecháno. Na základě pozorovaných dat se zdá, že zahrnutí SPE a SIFE do vyšetřovacího algoritmu zvyšuje počet diagnostikovaných případů a zkracuje čas do stanovení diagnózy PTLD (Tabulka 14). Pro ověření pozorovaného trendu jsou však potřebná více robustní data, které může poskytnout indikace SPE a SIFE (případně dalších metod pro detekci GP) v pravidelných intervalech po TX.

Kombinace SPE (s následným SIFE pro potvrzení a určení typu GP), SFLC a UIFÉ je pro detekci GP optimální a má nejvyšší diagnostickou senzitivitu [90] [124]. Po identifikaci GP je potřebné posoudit její vývoj v čase. Pro rozlišení zpravidla benigních tranzientních a potenciálně maligních perzistentních forem je proto nutné vyšetření opakovat. Intervaly kontrolních vyšetření se volí podle kvantity monoklonální komponenty, klonální restrikce, případně další klinické symptomatologie, nebo laboratorních známek PTLD. Pro posouzení závažnosti nálezu je vhodná stratifikace rizika maligní progresy GP s výsledky SPE, SIFE a SFLC jako vstupními proměnnými [90] [91] [117]. Pokud má GP progresivní charakter (změna klonality nebo zvýšení koncentrace monoklonální komponenty), je indikováno neprodlené hematologické

vyšetření. I v případě vyloučení PTLT, je nutné pacienta s progresivní gamapatií sledovat v pravidelných intervalech, protože má zvýšené riziko rozvoje lymfoproliferace, případně ztráty alograftu (zejména štěpu ledviny) [87].

Speciální skupinu tvoří pacienti s asymptomatickým („doutnajícím“) mnohočetným myelomem. Jejich monitorování by mělo být vždy prováděno hematologem, z důvodu nutnosti rychlé terapeutické intervence v případě progresu onemocnění [91] [117]. Podrobnější sledování vyžadují také pacienti s jinými známými rizikovými faktory PTLT, jako je vyšší věk, infekce CMV, nebo EBV a imunosupresivní režim zahrnující indukční dávku, protilátky proti T – lymfocytům (ATG, anti-CD3) a / nebo inhibitory kalcineurinu (cyklosporin, takrolimus) [18] [54] [85] [86].

5.10. Vlastní návrh algoritmu

Prezentovaný algoritmus pro potransplantační diagnostiku PTLT byl navržen s ohledem na výše zmíněná fakta. Jeho základní struktura pozůstává ze dvou částí tzv. „low risk loop“ „high risk loop.“ Pacienti s nižším rizikem PTLT jsou sledováni v delších, ale pravidelných intervalech pomocí jednoduše realizovatelných klinických a laboratorních testů první linie dostupných i v běžné praxi mimo specializované transplantační centrum. V případě suspektních abnormalit ve výsledcích screeningových testů první linie jsou pacienti předáni do péče hematologa, který rozhodne o indikaci testů druhé linie k vyloučení nebo potvrzení diagnózy PTLT. V případě potřeby pak pacienti zůstávají v „high risk loop“ a jejich potranplantační monitoring zahrnuje častější a důkladnější vyšetření z důvodu zvýšeného rizika rozvoje PTLT. Algoritmus zde uvádíme v podobě, ve které byl publikován v roce 2019 (Příloha 1) [127].

5.11. Limitace a silné stránky provedených studií

5.11.1. Studie 1 - Incidence a mortalita PTLD

Limitace

Zřejmým důsledkem retrospektivního designu studie byla heterogenita analyzovaných dat, které odrážely dosavadní nesystematickou praxi vyšetřování. Omezujícím faktorem byla dále nestejná doba follow-up probandů. Tento faktor jsme zohlednili při výběru statistických metod (Coxova regresní analýza, „competing risk“ analýza a vyjádření výskytu pomocí parametru „incidence rate“). Suboptimální monitoring pacientů po TX se zaměřením na PTLD mohl částečně ovlivnit data o době nástupu a mortalitě PTLD a zčásti též zastoupení jednotlivých pozorovaných typů PTLD (nízký počet tzv. „early lesions“ ve srovnání s jinými studiemi). Do studie bylo zahrnuto jen málo pediatrických pacientů což by mělo být zohledněno při aplikaci závěrů v klinické praxi.

Silné stránky

V rámci studie byl analyzován rozsáhlý soubor unikátních dat pacientů po TX solidních orgánů a zároveň byly zastoupeny všechny nejčastější typy TX (srdce, ledvina, játra, pankreas, kombinovaná TX), které se typicky odlišují strategií imunosupresivního režimu. Další výhodou provedené studie byla délka sledování probandů. Vzhledem ke známé nízké prevalenci studované nemoci byly jak rozsah analyzované populace, tak dostatečná doba follow-up nezbytnými předpoklady k zachycení reprezentativního vzorku pacientů s PTLD. Využití transplantačního registru IKEM bylo zárukou konzistence a přesnosti analyzovaných dat.

5.11.2. Studie 2 - Laboratorní metody pro detekci gamapatie po TX

Limitace

Základní limitací byla poměrně krátká doba follow-up. Ta měla za následek, že v rámci studie nebylo možné odhadnout vývoj gamapatií po 24. měsíci po transplantaci (zejména 9 případů patologického poměru FLC κ / λ). Omezená doba sledování a nízký počet probandů způsobily, že v průběhu této studie nebyl identifikován žádný případ PTLD. Pro nalezení asociace mezi výskytem gamapatie a diagnózou PTLD jsme proto následně zvolili jiný přístup, který vedl k realizaci studie 3.

Silné stránky

Prospektivní design studie nám umožnil získat přesná a homogenní data, vypovídající o prvních dvou letech po TX srdce. Cenné jsou zvláště detailní poznatky o dynamice volných lehkých řetězců a vývoji GP ve specifických podmínkách silné imunosupresivní terapie, která transplantaci srdce provází.

5.11.3. Studie 3 – Výskyt gamapatie po TX, analýza asociace mezi GP a PTLD

Limitace

Z retrospektivního designu vyplývá určitý stupeň heterogenity dat. Vzhledem k zaměření studie je největší limitací nepravidelné vyšetřování pacientů na přítomnost gamapatie (indikace vyšetření SPE, SIFE, SFLC, UIFE) což mohlo ovlivnit zejména data o počtu tranzientních gamapatií, které jsou detekovatelné po omezenou dobu několika měsíců. Údaje o výskytu perzistentních gamapatií (MGUS a maligní gamapatie) byly pravděpodobně ovlivněny jen minimálně. Pacienti, u kterých byla detekována monoklonální gamapatie, byli pravděpodobně následně vyšetřováni podrobněji (hematologické vyšetření, CT, MRI, biopsie kostní dřeně a další), než skupina pacientů bez nálezu gamapatie. Důsledkem může být existence tzv. partial verification bias. Vzhledem k charakteru studie nebylo možné ověřit, do jaké míry byly pozorované

asociace ovlivněny touto systematickou chybou. Předpokládáme však, že její vliv byl do značné míry omezen důsledným monitorováním zdravotního stavu všech pacientů v rámci standardní potransplantační péče. Výsledky biopsie kostní dřeně a vyšetření moče na přítomnost lehkých řetězců byly k dispozici jen sporadicky, což nám znemožnilo jasně oddělit případy MGUS a asymptomatického (doutnajícího) myelomu a spolehlivě zachytit gamapatie z monoklonálních volných lehkých řetězců. Do studie bylo zahrnuto jen málo pediatrických pacientů což by mělo být zohledněno při aplikaci závěrů v klinické praxi.

Silné stránky

Velký rozsah studované kohorty nám umožnil provést subanalýzy pro několik různých typů transplantací a zachytit vysoký počet případů PTLD v porovnání s již provedenými studiemi s podobným zaměřením. Provedení, hodnocení a interpretace nálezů SPE a SIFE bylo do velké míry standardizováno, což umožnilo minimalizovat subjektivní charakter výsledků, který je pro tuto metodu typický. Využití robustních metod pro statistické vyhodnocení klinického významu gamapatií pomocí Coxova modelu proporcionálních rizik a analýzy konkurenčních rizik podle modelu Fineho a Greye je předpokladem validity pozorovaných výsledků.

Závěr

V první části projektu jsme prokázali vysokou incidenci lymfoproliferací po transplantaci solidních orgánů a potvrdili jsme již publikovaná data ze zahraničí pro českou populaci. Analýza přežívání pacientů po TX jasně prokázala prognostickou závažnost PTLD a vysokou mortalitu příjemců transplantátů s touto komplikací.

V navazující studii jsme se zaměřili na určení výskytu GP po TX a schopnost různých laboratorních metod identifikovat pacienty s abnormální syntézou imunoglobulinů. Z výsledků je zřejmé, že GP jsou v potransplantačním období velmi časté, ale ne všechny představují pro pacienta stejné riziko. Přibližně jedna třetina detekovaných GP byla tranzitní a odrážela jen dočasnou nerovnováhu v regulačních mechanismech imunitního systému bez zvýšeného rizika rozvoje závažnějších komplikací. Dále jsme zjistili, že pro spolehlivou detekci GP po TX je nezbytná kombinace více metod v optimální podobě SPE, SIFE, SFLC a UIFL. Multimarkerová strategie je předpokladem identifikace rizikových pacientů s méně častými typy GP (například z volných lehkých řetězců), které však mohou představovat vysoké riziko rozvoje maligní lymfoproliferace nebo ztráty štěpu. Při posuzování výsledků těchto metod je ale nutné vzít do úvahy, že nález abnormální produkce imunoglobulinů může mít kromě lymfoproliferace i jiné příčiny (např. snížená glomerulární filtrace, humorální rejekce, srdeční selhávání a další). Nezbytnou součástí interpretace výsledků je proto sledování jejich dynamiky v čase.

Dalším cílem bylo prozkoumání vztahu mezi abnormální syntézou imunoglobulinů a patologickou proliferací lymfocytů. Již na začátku bylo zřejmé, že by tyto dva patofyziologické děje mohly mít jistý průnik, dosud publikované práce zkoumající tuto hypotézu se ale ve výsledcích výrazně odlišovaly. V souboru 1667 transplantovaných se nám podařilo prokázat statisticky signifikantní asociaci potransplantační GP s následným rizikem rozvoje PTLD, ztráty štěpu i sníženého přežívání po TX. Z uvedeného vyplývá, že pacienty s GP po TX solidních orgánů je nutné cíleně vyhledávat a následně zvažovat případné změny v jejich potransplantačním follow-up. Metody pro detekci GP proto

doporučujeme zahrnout jako jeden z testů první linie spolu s klinickým vyšetřením a dalšími laboratorními testy pro identifikaci časných stadií PTLD.

Je důležité zdůraznit, že žádný z laboratorních testů pro detekci GP nemá dostatečnou diagnostickou senzitivitu, aby mohl být použit jako jediná univerzální screeningová metoda pro všechny pacienty s PTLD. Nejlepších výsledků je dosaženo v případě jejich kombinace a v případě plazmocelulárního typu PTLD. Metody nejsou určeny pro stanovení definitivní diagnózy PTLD, jejich úlohou je upozornit na pacienty s rizikem rozvoje lymfoproliferace a iniciovat další diagnostický proces. V případě použití v kombinaci s cíleným klinickým vyšetřením a sérologickým vyšetřením EBV a CMV u dárce a příjemce mohou zvýšit efektivitu diagnostiky PTLD.

Ve finální části celého projektu jsme na základě zjištěných závěrů z dílčích studií a již publikovaných literárních údajů navrhli diagnostickou strategii pro zvýšení zachytu PTLD u rizikové TX populace ideálně již ve fázi zvýšeného rizika. Kromě „tvrdých“ dat jsme vycházeli i z několikaletých zkušeností Pracoviště laboratorních metod IKEM v péči o TX populaci a prezentovaný algoritmus je navržen s orientací na praktické využití v rutinní klinické praxi. Algoritmus je založen na logickém a cyklickém sledování pacientů po TX, kombinuje použití klinických i laboratorních dat, využívá jak metody obecně dostupné, tak metody specializované, dává prostor pro individuální hodnocení hematologem a ukazuje možné rizikové nebo diagnostické situace.

Bibliografie

- [1] KALINOVÁ L., INDRÁKOVÁ J., VÁCHALOVÁ M., BACHLEDA P. Role imunosupresivní terapie ve vztahu k výskytu nádorových onemocnění po orgánové transplantaci. *Klini Farmakol Farm.* 2010; **24**(2), s.85-88.
- [2] *Israel Penn International Transplant Tumor Registry* [online]. Cincinnati: University of Cincinnati, Ohio [cit. 20.6.2020]. Dostupné z: <https://ipittr.uc.edu/>
- [3] BUELL J.F., GROSS T.G., THOMAS M.J. et al. Malignancy in pediatric transplant recipients. *Semin Pediatr Surg.* 2006; **15**, s.179-187.
- [4] CLEPER R., BEN SHALOM E., LANDAU D. et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorder in pediatric kidney-transplant recipients - a national study. *Pediatr Transplant.* 2012; **16**(6), s.619-626.
- [5] *Tx aktivita v ČR od roku 2006 – 2019* [online]. Praha: Koordinační středisko transplantací [cit. 18.2.2020]. Dostupné z: <https://kst.cz/statistiky/>
- [6] ZWALD-O'REILLY F., BROWN M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: Advances in therapy and management. *J Am Acad Dermatol.* 2011; **65**, s.253-261.
- [7] HOŠKOVÁ L., PODZIMKOVÁ M., MÁLEK I. et al. Specifika péče o nemocné po transplantaci srdce. *Cor et Vasa.* 2011; **53**, s.1-2.
- [8] GRUESSNER R., JIE T., PORUBSKY M. et al. Comparison of 20-Year Patient and Graft Survival for All Types of Solid Organ Transplants. *Am J Transpl.* 2013; **13**, s.Suppl 3.
- [9] BUELL J., GROSS T., WOODLE S. Malignancy after transplantation. *Transplantation.* 2005; **15**, s.254-258.
- [10] PENN I., HALGRIMSON C.G., STARZL T.E. De novo malignant tumors in organ transplant recipients. *Transpl Proc.* 1971; **3**(1), s.773-778.
- [11] GALLAGHER M., KELLY P.J., JARDINE M. et al. Long-term cancer risk of immunosuppressive regimens after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2010; **21**(5), s.852-858.

- [12] MIAO Y., EVERLY J.J., TEVAR A.D. et al. De novo cancers arising in organ transplant recipients are associated with adverse outcomes compared with the general population. *Transplantation*. 2009; **9**(87), s.1347-1359.
- [13] KRYNITZ B., EDGREN G., LINDELOF B. et al. Risk of skin cancer and other malignancies in kidney, liver, heart and lung transplant recipients 1970 to 2008--a Swedish population-based study. *Int J Cancer*. 2013; **132**(6), s.1429-1438.
- [14] ENGELS E.A., PFEIFFER R.M., FRAUMENI J.F. et al. Spectrum of Cancer Risk among U.S. Solid Organ Transplant Recipients: The Transplant Cancer Match Study. *JAMA*. 2011; **306**(17), s.1891-1901.
- [15] ADAMI J., GÄBEL B., LINDELOF K. et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *Br J Cancer*. 2003; **89**, s.1221-1227.
- [16] KELLERMAN L., NEUGUT A., BURKE B. et al. Comparison of the incidence of de novo solid malignancies after heart transplantation to that in the general population. *Am J Cardiol*. 2009; **103**, s.562-566.
- [17] ABERG F., PUKKALA E., HOCKERSTEDT K. et al. Risk of malignant neoplasms after liver transplantation: a population-based study. *Liver Transplant*. 2008; **14**, s.1428-1436.
- [18] PARKER A., BOWLES K., BRADLEY A. et al. Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol*. 2010; **5**, s.675-692.
- [19] ZAFAR S.Y., HOWELL D.N., GOCKERMAN J.P. Malignancy After Solid Organ Transplantation. *The Oncologist*. 2008; **13**, s.769-778.
- [20] BISHNOI R., BAJWA R., FRANKE A.J et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD): single institutional experience of 141 patients. *Exp Hematol Oncol*. 2017; **6** (26).
- [21] STEINER R., KRIDEL R., GIOSTRA E., et al. Low 5-year cumulative incidence of post-transplant lymphoproliferative disorders after solid organ transplantation in Switzerland. *Swiss Med Wkly*. 2018; **148**, s.14596.
- [22] FAULL R.J., HOLLETT P., MCDONALD S.P. Lymphoproliferative disease after renal transplantation in Australia and New Zealand. *Transplantation*. 2005; **80**(2), s.193-197.

- [23] MORTON L.M., LANDGREN O., CHATTERJEE N., et al. Hepatitis C virus infection and risk of posttransplantation lymphoproliferative disorder among solid organ transplant recipients. *Blood*. 2007; **110**(13), s.4599-4605.
- [24] OPELZ G., DÖHLER B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant*. 2004; **4**(2), s.222-230.
- [25] AULL M.J., BUELL J.F., TROFE J., et al. Experience with 274 cardiac transplant recipients with posttransplant lymphoproliferative disorder: a report from the Israel Penn International Transplant Tumor Registry. *Transplantation*. 2004; **78**(11), s.1676-1682.
- [26] WASSON S., ZAFAR M.N., BEST J., REDDY H.K. Post-transplantation lymphoproliferative disorder in heart and kidney transplant patients: a single-center experience. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2006; **11**(1), s.77-83.
- [27] KOFF J.L., LI J.X., ZHANG X. et al. Impact of the posttransplant lymphoproliferative disorder subtype on survival. *Cancer*. 2018; **124**(11), s.2327-2336.
- [28] TAYLOR A.L., MARCUS R., BRADLEY J.A. Post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after solid organ transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005; **56**(1), s.155-67.
- [29] PARKER A., BOWLES K., BRADLEY J.A. et al.; Haemato-oncology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology and British Transplantation Society. Management of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol*. 2010; **149**(5), s.693-705.
- [30] NEURINGER I.P. Posttransplant lymphoproliferative disease after lung transplantation. *Clin Dev Immunol*. 2013; **2013**, s.430209.
- [31] HALVOVÁ P., GRUNDMANN M. Farmakokinetika a klinické aplikace vybraných imunosupresiv II. *Klin farmakol farm* 2010; **1**(24), s.51-56.
- [32] COCKFIELD S.M. Identifying the patient at risk for post-transplant lymphoproliferative disorder. *Transpl Infect Dis*. 2001; **3**(2), s.70-78.
- [33] TEICHER B.A. Malignant cells, directors of the malignant process: role of transforming growth factor-beta. *Cancer Metastasis Rev*. 2001; **20**(1-2), s.133-43.
- [34] BAIOCCHI O.C., COLLEONI G.W., CABALLERO O.L., et al. Epstein-Barr viral load, interleukin-6 and interleukin-10 levels in post-transplant

- lymphoproliferative disease: a nested case-control study in a renal transplant cohort. *Leuk Lymphoma*. 2005; **46**(4), s.533-539.
- [35] BLAHETA R.A., BOGOSSIAN H., BEECKEN W.D. et al. Mycophenolate mofetil increases adhesion capacity of tumor cells in vitro. *Transplantation*. 2003; **76**(12), s.1735-1741.
- [36] FUNCH D.P., KO H.H., TRAVASSO J. et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder among renal transplant patients in relation to the use of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2005; **80**(9), s.1174-1180.
- [37] CHERIKH W.S., KAUFFMAN H.M., MCBRIDE M.A. et al. Association of the type of induction immunosuppression with posttransplant lymphoproliferative disorder, graft survival, and patient survival after primary kidney transplantation. *Transplantation*. 2003; **76**(9), s.1289-93.
- [38] HERR I., UCUR E., HERZER K. et al. Glucocorticoid cotreatment induces apoptosis resistance toward cancer therapy in carcinomas. *Cancer Res*. 2003; **63**(12), s.3112-3120.
- [39] VON KNEBEL DOEBERITZ M., KOCH S., DRZONEK H., ZUR HAUSEN H. Glucocorticoid hormones reduce the expression of major histocompatibility class I antigens on human epithelial cells. *Eur J Immunol*. 1990; **20**(1), s.35-40.
- [40] RUTZ H.P. Effects of corticosteroid use on treatment of solid tumours. *Lancet*. 2002; **360**(9349), s.1969-1970.
- [41] CIDLOWSKI J.A., KING K.L., EVANS-STORMS R.B. et al. The biochemistry and molecular biology of glucocorticoid-induced apoptosis in the immune system. *Recent Prog Horm Res*. 1996; **51**, s.457-491.
- [42] JUSKO W.J. Pharmacokinetics and receptor-mediated pharmacodynamics of corticosteroids. *Toxicology*. 1995; **102**(1-2), s.189-196.
- [43] KAUFFMAN H.M., CHERIKH W.S., CHENG Y. et al. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation*. 2005; **80**(7), s.883-889.
- [44] MATHEW T., KREIS H., FRIEND P. Two-year incidence of malignancy in sirolimus-treated renal transplant recipients: results from five multicenter studies. *Clin Transplant*. 2004; **18**(4), s.446-449.

- [45] ALBERÚ J., PASCOE M.D., CAMPISTOL J.M. et al. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus-based, calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2011; **92**(3), s.303-310.
- [46] SCHENA F.P., PASCOE M.D., ALBERU J. et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2009;87(2):233-242. doi:10.1097/TP.0b013e3181927a41
- [47] BÜRGELOVÁ M. Imunosupresivní léčba po transplantaci ledviny – současné přístupy. *Remedia* 2011; **4**.
- [48] CHOQUET S., VARNOUS S., DEBACK C., GOLMARD J.L., LEBLOND V. Adapted treatment of Epstein-Barr virus infection to prevent posttransplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation. *Am J Transplant*. 2014;14(4):857-866. doi:10.1111/ajt.12640
- [49] HABER J., FORSTEROVÁ K. EBV infekce/reaktivace; EBV asociované klinické syndromy, epidemiologie a rizikové faktory vzniku PTLĐ. *Postgraduální medicína*. 2013; **15**(4), s.58-62.
- [50] TAYLOR G.S., BLACKBOURN D.J. Infectious agents in human cancers: lessons in immunity and immunomodulation from gammaherpesviruses EBV and KSHV. *Cancer Lett*. 2011; **305**(2), s.263-278.
- [51] SAVARD M., GOSSELIN J. Epstein-Barr virus immunosuppression of innate immunity mediated by phagocytes. *Virus Res*. 2006; **119**(2), s.134-145.
- [52] ROWE M., ZUO J. Immune responses to Epstein-Barr virus: molecular interactions in the virus evasion of CD8+ T cell immunity. *Microbes Infect*. 2010; **12**(3), s.173-181.
- [53] COHEN J.I. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000; **343**(7), s.481-492.
- [54] QUINLAN S.C., PFEIFFER R.M., MORTON L.M., ENGELS E.A. Risk factors for early-onset and late-onset post-transplant lymphoproliferative disorder in kidney recipients in the United States. *Am J Hematol*. 2011; **86**(2), s.206-209.
- [55] BAKKER N.A., VAN IMHOFF G.W., VERSCHUUREN E.A. et al. Early onset post-transplant lymphoproliferative disease is associated with allograft localization. *Clin Transplant*. 2005; **19**(3), s.327-334.

- [56] GHOBRIAL I.M., HABERMANN T.M., MACON W.R. et al. Differences between early and late posttransplant lymphoproliferative disorders in solid organ transplant patients: are they two different diseases?. *Transplantation*. 2005; **79**(2), s.244-247.
- [57] LEBLOND V., DAVI F., CHARLOTTE F. et al. Posttransplant lymphoproliferative disorders not associated with Epstein-Barr virus: a distinct entity?. *J Clin Oncol*. 1998; **16**(6), s.2052-2059.
- [58] SWERDLOW S.H., CAMPO E., PILERI S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; **127**(20), s.2375-2390.
- [59] BAKKER N.A., VAN IMHOFF G.W., VERSCHUUREN E.A., VAN SON W.J. Presentation and early detection of post-transplant lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation. *Transpl Int*. 2007; **20**(3), s.207-218.
- [60] LEE T.C., SAVOLDO B., ROONEY C.M. et al. Quantitative EBV viral loads and immunosuppression alterations can decrease PTLTD incidence in pediatric liver transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005; **5**(9), s.2222-2228.
- [61] MEERBACH A., WUTZLER P., HÄFER R. et al. Monitoring of Epstein-Barr virus load after hematopoietic stem cell transplantation for early intervention in post-transplant lymphoproliferative disease. *J Med Virol*. 2008; **80**(3), s.441-454.
- [62] RIDDLER S.A., BREINIG M.C., MCKNIGHT J.L. Increased levels of circulating Epstein-Barr virus (EBV)-infected lymphocytes and decreased EBV nuclear antigen antibody responses are associated with the development of posttransplant lymphoproliferative disease in solid-organ transplant recipients. *Blood*. 1994; **84**(3), s.972-984.
- [63] ALLEN U., PREIKSAITIS J. AST Infectious Diseases Community of Practice. Epstein-barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009; **9**(Suppl. 4), s.87-96.
- [64] DOESCH A.O., KONSTANDIN M., CELIK S. et al. Epstein-Barr virus load in whole blood is associated with immunosuppression, but not with post-transplant lymphoproliferative disease in stable adult heart transplant patients. *Transpl Int*. 2008; **21**(10), s.963-971.

- [65] OPELZ G., DÖHLER B. Pediatric kidney transplantation: analysis of donor age, HLA match, and posttransplant non-Hodgkin lymphoma: a collaborative transplant study report. *Transplantation*. 2010; **90**(3), s.292-297.
- [66] SCHUBERT S., RENNER C., HAMMER M. et al. Relationship of immunosuppression to Epstein-Barr viral load and lymphoproliferative disease in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. 2008; **27**(1), s.100-105.
- [67] FURTADO M., SHAH N., LEVOGUER A. et al. Abnormal serum free light chain ratio predicts poor overall survival in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2013; **160**(1), s.63-69.
- [68] PINTO A., DE FILIPPI R., IACCARINO G. et al. Abnormalities in Serum Free-Immunoglobulin Light Chains Show a High and Differential Frequency among WHO Subtypes of B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL) and May Turn of Value for Therapeutic Monitoring: A Study of 354 Newly Diagnosed Patients. *Blood*. 2008; **112**, s.2813
- [69] MARTIN W., ABRAHAM R., SHANAFELT T. et al. Serum-free light chain-a new biomarker for patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Transl Res*. 2007; **149**(4), s.231-235.
- [70] MAURER M.J., MICALLEF I.N., CERHAN J.R. et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011; **29**(12), s.1620-1626.
- [71] WITZIG T.E., MAURER M.J., STENSON M.J. et al. Elevated serum monoclonal and polyclonal free light chains and interferon inducible protein-10 predicts inferior prognosis in untreated diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol*. 2014; **89**(4), s.417-422.
- [72] HAN X., WANG J., ZHANG N. et al. The prognostic utility and the association of serum light chains (free and total) and absolute lymphocyte count in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Res*. 2014; **38**(11), s.1291-1298.
- [73] KIM Y.R., KIM S.J., CHEONG J.W. et al. Monoclonal and polyclonal gammopathy measured by serum free light chain and immunofixation subdivide the clinical outcomes of diffuse large B-cell lymphoma according to molecular classification. *Ann Hematol*. 2014; **93**(11), s.1867-1877.

- [74] PRATT G., HARDING S., HOLDER R. et al. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival and may reflect biological subgroups in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009; **144**(2), s.217-222.
- [75] BRADWELL A.R. et al. *Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevylite), seventh edition*. London: Binding Site Group, 2015. ISBN 0993219608.
- [76] TATE J., BAZELEY S., SYKES S., MOLLEE P. Quantitative serum free light chain assay--analytical issues. *Clin Biochem Rev*. 2009; **30**(3), s.131-140.
- [77] LEMOINE A., PHAM P., AZOULAY D. et al. Detection of gammopathy by serum protein electrophoresis for predicting and managing therapy of lymphoproliferative disorder in 911 recipients of liver transplants. *Blood*. 2001; **98**(5), s.1332-1338.
- [78] PASSWEG J., THIEL G., BOCK H.A. Monoclonal gammopathy after intense induction immunosuppression in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1996; **11**(12), s.2461-2465.
- [79] JIMENEZ-ZEPEDA V.H., HEILMAN R.L., ENGEL R.A. et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance does not affect outcomes in patients undergoing solid organ transplants. *Transplantation*. 2011; **92**(5), s.570-574.
- [80] TSAI D.E., AQUI N.A., TOMASZEWSKI J.E. et al. Serum protein electrophoresis abnormalities in adult solid organ transplant patients with post-transplant lymphoproliferative disorder. *Clin Transplant*. 2005; **19**(5), s.644-652.
- [81] REDFIELD R.R., NAJI A. Progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma in a solid organ transplant. *Transplantation*. 2011; **92**(12), s.65-66.
- [82] KUHN D., WANG P., SHU I. et al. Comparison of Free Light Chain Assay with Protein Electrophoresis for Screening and Monitoring PTLN. *Blood*. 2014; **124**, s.5883.
- [83] ALFANO G., FONTANA F., COLACI E. et al. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance After Kidney Transplantation: Single-Center Experience. *Transplantation*. 2017; **101**(11), s.337-342.
- [84] ENGELS E.A., SAVOLDO B., PFEIFFER R.M. et al. Plasma markers of B-cell activation and clonality in pediatric liver and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transplantation*. 2013; **95**(3), s.519-526.

- [85] CAFORIO A.L., GAMBINO A., BELLONI FORTINA A. et al. Monoclonal gammopathy in heart transplantation: risk factor analysis and relevance of immunosuppressive load. *Transplant Proc.* 2001; **33**(1-2), s.1583-1584.
- [86] CHAKALAROVSKI C., LANG P., BUISSON C. et al. Monoclonal immunoglobulins in patients with renal transplants: characterization, evolution and risk factors. *Transpl Int.* 1992; **5**(Suppl.1), s.23-25.
- [87] GALIOTO A., MORANDO F., ROSI S. et al. Monoclonal gammopathy after liver transplantation: a risk factor for long-term medical complications other than malignancies. *Transpl Int.* 2012; **25**(1), s.25-33.
- [88] SOLTERO L., CARBAJAL H., XU J. et al. Initial survival data of kidney transplant patients with pre-transplant monoclonal gammopathy. *Clin Transplant.* 2012; **26**(2), s.300-304.
- [89] BADLEY A.D., PORTELA D.F., PATEL R. et al. Development of monoclonal gammopathy precedes the development of Epstein-Barr virus-induced posttransplant lymphoproliferative disorder. *Liver Transpl Surg.* 1996; **2**(5), s.375-382.
- [90] DISPENZIERI A., KYLE R., MERLINI G. et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia.* 2009; **23**(2), s.215-224.
- [91] KYLE R.A., DURIE B.G., RAJKUMAR S.V. et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia.* 2010; **24**(6), s.1121-1127.
- [92] ENGELS E.A., PREIKSAITIS J., ZINGONE A., LANDGREN O. Circulating antibody free light chains and risk of posttransplant lymphoproliferative disorder. *Am J Transplant.* 2012; **12**(5), s.1268-1274.
- [93] ENGELS E.A., LANDGREN O., COSTELLO R. et al. Serum immunoglobulin free light chains and post-transplant lymphoproliferative disorder among allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2015; **50**(1), s.146-147.
- [94] FERNANDO R.C., RIZZATTI E.G., BRAGA W.M. et al. Serum free light chains and post-transplant lymphoproliferative disorder in patients with renal transplant. *Leuk Lymphoma.* 2013; **54**(10), s.2177-2180.

- [95] SÁNCHEZ-CASTAÑÓN M., GAGO M., FERNANDEZ-FRESNEDO G. et al. Quantitative assessment of serum free light chains in renal transplantation. *Transplant Proc.* 2010; **42**(8), s.2861-2863.
- [96] NAINA H.V., HARRIS S., DISPENZIERI A. et al. Long-term follow-up of patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance after kidney transplantation. *Am J Nephrol.* 2012; **35**(4), s.365-371.
- [97] RESULI M., NIELSEN F.T., GIMSING P. et al. Multiple myeloma in a kidney transplanted patient primarily diagnosed with monoclonal gammopathy of unknown significance (MGUS)-related nephropathy. *Clin Kidney J.* 2013; **6**(4), s.445-446.
- [98] BANCU I., CAÑAS L., JUEGA F.J. et al. Outcomes of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance in Patients Who Underwent Kidney Transplantation. *Transplant Proc.* 2015; **47**(8), s.2344-2345.
- [99] CUÉLLAR-GARCÍA C., SEVILLANO RUIZ-MATEOS C., MAZUECOS BLANCA M.A. et al. Follow-up monoclonal gammopathy of undetermined significance in kidney transplant. *Transplant Proc.* 2015; **47**(1), s.78-80.
- [100] TOUCHARD G., PASDELOUP T., PARPEIX J. et al. High prevalence and usual persistence of serum monoclonal immunoglobulins evidenced by sensitive methods in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; **12**(6), s.1199-1203.
- [101] SAFADI S., DISPENZIERI A., AMER H. et al. Multiple myeloma after kidney transplantation. *Clin Transplant.* 2015; **29**(1), s.76-84.
- [102] PAGEAUX G.P., BONNARDET A., PICOT M.C. et al. Prevalence of monoclonal immunoglobulins after liver transplantation: relationship with posttransplant lymphoproliferative disorders. *Transplantation.* 1998; **65**(3), s.397-400.
- [103] BABEL N., SCHWARZMANN F., PRUSS A. et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) is associated with an increased frequency of Epstein-Barr Virus (EBV) latently infected B lymphocytes in long-term renal transplant patients. *Transplant Proc.* 2004; **36**(9), s.2679-2682.
- [104] GOEBEL T.E., SCHILTZ N.K., WOODSIDE K.J. et al. Neoplastic and non-neoplastic complications of solid organ transplantation in patients with

- preexisting monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Clin Transplant*. 2015; **29**(9), s.851-857.
- [105] KDIGO board of authors. 2012 KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements* (<http://www.kidney-international.org>). 2013; **3**(1).
- [106] HUTCHISON C.A., HARDING S., HEWINS P. et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; **3**(6), s.1684-1690.
- [107] TATE J., CALDWELL G., DALY J. et al. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem*. 2012; **49**(3), s.242-256.
- [108] FINE J. A Proportional Hazards Model for the Subdistribution of a Competing Risk. *J Am Stat Assoc*. 1999; **446**, s.496-509.
- [109] GIRMAN P., LIPAR K., KOCIK M. et al. Neoplasm Incidence in Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation: A Single-Center Analysis. *Transplant Proc*. 2011; **43**(9), s.3288–3291.
- [110] SEČNÍKOVÁ Z., GÖPFERTO VÁ D., HOŠKOVÁ L. et al. Significantly higher incidence of skin cancer than other malignancies in patients after heart transplantation. A retrospective cohort study in the Czech Republic. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2015; **159**(4), s.648-651.
- [111] AULL M.J., BUELL J.F., Peddi V.R. et al. MALToMa: a Helicobacter pylori-associated malignancy in transplant patients: a report from the Israel Penn International Transplant Tumor Registry with a review of published literature. *Transplantation*. 2003 ;**75**(2), s.225-228.
- [112] MYARA I., QUENUM G., STOROGENKO M. et al. Monoclonal and oligoclonal gammopathies in heart-transplant recipients. *Clin Chem*. 1991; **37**(8), s.1334-1337.
- [113] RAJKUMAR S.V., KYLE R.A., THERNEAU T.M. et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2005; **106**(3), s.812-817.
- [114] JACKSON C.E., HAIG C., WELSH P. et al. Combined Free Light Chains Are Novel Predictors of Prognosis in Heart Failure. *JACC Heart Fail*. 2015; **3**(8), s.618-625.

- [115] JANUZZI J.L., MANN D.L. Light Chains and the Failing Heart: Important Mechanistic Link or Fifty Shades of Gray? *JACC Heart Fail.* 2015; **3**(8), s.626-628.
- [116] KYLE R.A., THERNEAU T.M., RAJKUMAR V. et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2006; **354**(13), s.1362-1369.
- [117] RAJKUMAR S.V., DIMOPOULOS M.A., PALUMBO A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014; **15**(12), s.538-548.
- [118] LEUNG N., BRIDOUX F., HUTCHISON C.A. et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: when MGUS is no longer undetermined or insignificant. *Blood.* 2012; **120**(22), s.4292-4295.
- [119] SUN X., PETERSON L.C., GONG Y. et al. Post-transplant plasma cell myeloma and polymorphic lymphoproliferative disorder with monoclonal serum protein occurring in solid organ transplant recipients. *Mod Pathol.* 2004; **17**(4), s.389-394.
- [120] NALESNIK M.A. Plasma cell tumors in transplant patients. *Blood.* 2013; **121**(8), s.1247-1249.
- [121] KARUTURI M., SHAH N., FRANK D. et al. Plasmacytic post-transplant lymphoproliferative disorder: a case series of nine patients. *Transpl Int.* 2013; **26**(6), s.616-622.
- [122] TRAPPE R., ZIMMERMANN H., FINK S. et al. Plasmacytoma-like post-transplant lymphoproliferative disorder, a rare subtype of monomorphic B-cell post-transplant lymphoproliferation, is associated with a favorable outcome in localized as well as in advanced disease: a prospective analysis of 8 cases. *Haematologica.* 2011; **96**(7), s.1067-1071.
- [123] PALLADINI G., RUSSO P., BOSONI T. et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin Chem.* 2009; **55**(3), s.499-504.
- [124] KATZMANN J.A., KYLE R.A., BENSON J. et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem.* 2009; **55**(8), s.1517-1522.
- [125] SEČNÍK P., HONSOVÁ E., JABOR A., LAVŘÍKOVÁ P., FRANEKOVÁ J. Multiple qualitative and quantitative methods for free light chain analysis are

necessary as first line tests for AL amyloidosis. *Clin Chem Lab Med.* 2016; **54**(6), s.981-984.

- [126] CHARAFEDDINE K.M., JABBOUR M.N., KADI R.H., DAHER R.T. Extended use of serum free light chain as a biomarker in lymphoproliferative disorders: a comprehensive review. *Am J Clin Pathol.* 2012; **137**(6), s.890-897.
- [127] SEČNÍK P., JABOR A., LAVŘÍKOVÁ P. et al. Immunoglobulin abnormalities in 1677 solid organ transplant recipients. Implications for posttransplantation follow-up. *Transpl Immunol.* 2019; **57**, 101229.

Seznam použitých zkratk

ATG – antithymocytární globulin

CI – konfidenční interval

CMV - *Cytomegalovirus*

CNI – kalcineurinový inhibitor

CT – počítačová tomografie

ČR – Česká republika

DLBCL – difuzní velkobuněčný lymfom

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EBV – *virus Epstein-Barrové*

eGFR – odhadovaná glomerulární filtrace (z angl. „estimated glomerular filtration rate“)

FLC – volné lehké řetězce

GP – gamapatie (přítomnost abnormálního imunoglobulinu, nebo jeho části)

HHV 8 – *lidský Herpesvirus 8*

HL – lymfom Hodgkinova typu

HLA – lidské leukocytové antigeny (z angl. „human leukocyte antigens“)

HPV – *lidský Papilomavirus*

HR – hazard ratio

IQR – interkvartilové rozpětí

IKEM – Institut klinické a experimentální medicíny v Praze

IFN γ – interferon gama

IL-4, IL-6, IL-10 – interleukiny 4, 6, 10

MALT – lymfoidní tkáň asociovaná se sliznicí (z angl. „mucosa associated lymphoid tissue“)

MGUS – monoklonální gamapatie nejistého významu

MMF – mykofenolát mofetil

mTOR – mammalian target of rapamycine

MRI – zobrazení pomocí magnetické rezonance

NFAT – nukleární faktor aktivující T – lymfocyty

NF κ B – nukleární faktor kappa-B

NHL – non-Hodgkinský lymfom

NK (buňky) – „natural killer“ buňky

NOR ÚZIS – Národní onkologický registr Ústavu zdravotnických informací a statistiky

PET – pozitronová emisní tomografie

PCR – polymerázová řetězová reakce

PTLD – post transplantační lymfoproliferativní onemocnění

RNA – ribonukleová kyselina

SFLC – analytická metoda pro stanovení volných lehkých řetězců imunoglobulinů v séru

SHLC – analytická metoda pro stanovení párů těžkých a lehkých řetězců imunoglobulinů v séru

SIFE – imunofixační elektroforéza bílkovin séra

SIR – standardized incidence ratio

SPE – gelová elektroforéza bílkovin séra

TGF- β 1 – transformující růstový faktor β 1

TX – transplantace

UIFE – imunofixační elektroforéza bílkovin moči

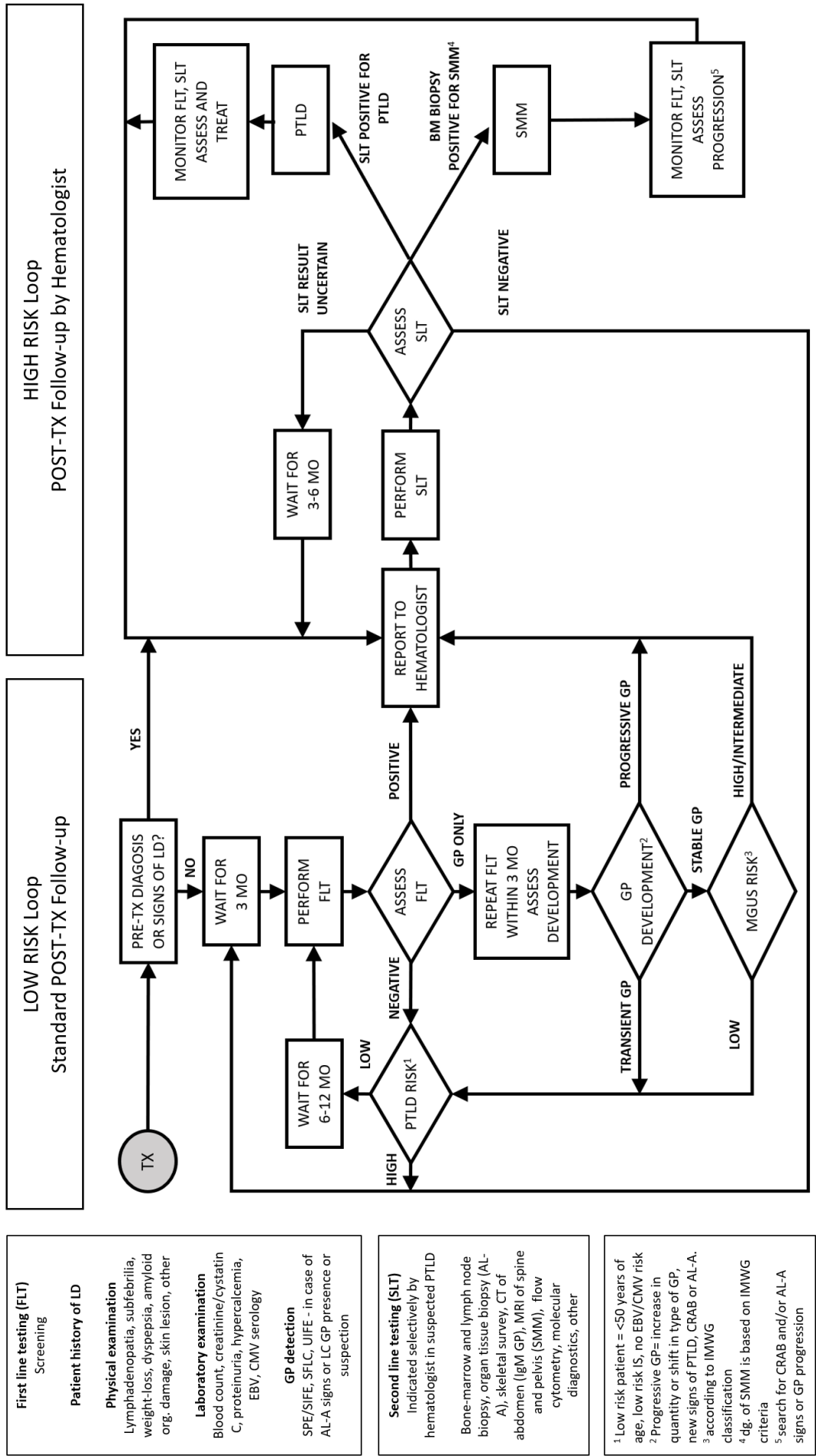
VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

WHO – Světová zdravotnická organizace

Seznam příloh

1. Návrh algoritmu pro screening PTLD
2. Seznam odborných konferencí, na kterých byly prezentovány výsledky studií
3. Seznam publikací prezentujících výsledky studií

Příloha 1 Návrh algoritmu pro screening PTLD



Příloha 2 Seznam odborných konferencí, na kterých byly prezentovány výsledky studií

Postery

SEČNÍK P., FRANEKOVÁ J., LAVRÍKOVÁ P., LABANCZOVÁ M., VICZENOVÁ D., POKORNÁ E., JABOR A. Gammopathies in 1685 solid organ transplant recipients. XXXVI. Nordic Congress in Clinical Chemistry, NFKK2018, 12th-15th June, Helsinki, Finland.

SEČNÍK P., FRANEKOVÁ J., HOŠKOVÁ L., PARKER A., JABOR A. Gamapatie u příjemců srdečních transplantátů. Pilotní studie. Studentská vědecká konference 3.lékařské fakulty UK, 19.5.2015, Praha, Česká republika.

SEČNÍK P., FRANEKOVÁ J., LAVRÍKOVÁ P., HOŠKOVÁ L., JABOR A. Intact immunoglobulin and free light chain gammopathies. Timelines and relationship to infection after heart transplantation. 4th Joint EFLM-UEMS Congress – Laboratory at the clinical interface, 21.-24.9.2016, Warsaw, Poland.

LAVRÍKOVÁ P., SEČNÍK P., JABOR A., HOŠKOVÁ L., FRANEKOVÁ J. The relationship between tacrolimus immunosuppressive treatment and free light chains in patients after Heart transplantation. 4th Joint EFLM-UEMS Congress – Laboratory at the clinical interface, 21.-24.9.2016, Warsaw, Poland.

SEČNÍK P., FRANEKOVÁ J., HOŠKOVÁ L., JABOR A. Monoklonální gamapatie u pacientů po transplantaci srdce, XI. Kongres Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, 5.-7.10.2014, Martin, SR.

SEČNÍK P., FRANEKOVÁ J., HOŠKOVÁ L., PARKER A., JABOR A. Intact immunoglobulin and free light chain gammopathies in heart transplant recipients. A pilot study. 7th International Symposium on Clinical Applications of Free Light Chain and Heavy/Light Chain Analysis. 16.-17.4.2015, Edinburgh, UK.

JABOR A., FRANEKOVÁ J., SEČNÍK P., LAVRÍKOVÁ P., HOŠKOVÁ L., POKORNÁ E. The detection of early risk of lymphoproliferative diseases after heart transplantation: important but underutilized. ESC Heart failure 2016, 21.-24.5.2016, Florence, Italy.

Přednášky

SEČNÍK P., HONSOVÁ E., JABOR A., LAVRÍKOVÁ P., FRANEKOVÁ J. (A)typický nález u AL amyloidózy, VI. ročník Setkání mladých biochemiků v Písku, 5.-6.11.2015, Písek, Česká republika.

SEČNÍK P. Monoklonální gamapatie u pacientů po transplantaci solidních orgánů. XXXII. Regionální pracovní dny klinické biochemie, 4.12. - 6.12.2013, Karlova Studánka, Česká republika.

Příloha 3 Seznam publikací prezentujících výsledky studií

Publikace v časopisech s IF

SEČNÍK P., JABOR A., LAVŘÍKOVÁ P., SEČNÍK J., MALÍKOVÁ P., POKORNÁ E., FRANEKOVÁ J. Immunoglobulin abnormalities in 1677 solid organ transplant recipients. Implications for posttransplantation follow-up. *Transpl Immunol.* 2019; **57**, 101229.

JABOR A., KUBÍČEK Z., KOMRSKOVÁ J., SEČNÍK P. JR., VACKOVÁ T., VYMĚTALÍK J., FRANEKOVÁ J.: Within-subject biological variation of pairs of heavy/light immunoglobulin IgM chains (HLC IgM K and L) is low and requires monitoring: A comparison with HLC IgA, HLC IgG, and free light immunoglobulin chains (FLC) in healthy subjects. *Clin Chim Acta.* 2018; **486**, s. 311-312.

LAVŘÍKOVÁ P., SEČNÍK P., KUBÍČEK Z., JABOR A., HOŠKOVÁ L., FRANEKOVÁ J.: Tacrolimus has immunosuppressive effects on heavy/light chain pairs and free light chains in patients after heart transplantation: A relationship with infection. *Transpl Immunol.* 2018; **50**, s.43-47.

SEČNÍK P., LAVŘÍKOVÁ P., HOŠKOVÁ L., MALÍKOVÁ P., JABOR A., FRANEKOVÁ J. Free light chain and intact immunoglobulin abnormalities in heart transplant recipients: Two year follow-up timelines and clinical correlations. *Transpl Immunol.* 2017; **41**, s.22-26.

SEČNÍK P., HONSOVÁ E., JABOR A., LAVŘÍKOVÁ P., FRANEKOVÁ J. Multiple qualitative and quantitative methods for free light chain analysis are necessary as first line tests for AL amyloidosis. *Clin Chem Lab Med.* 2016; **54**(6), s.981-984.

Publikace v recenzovaných časopisech bez IF

JABOR A., FRAŇKOVÁ S., ŠENKEŘÍKOVÁ R., KOMRSKOVÁ J., LABANCZOVÁ M., VICZÉNOVÁ D., SEČNÍK P., VACKOVÁ T. Volné lehké řetězce a páry těžkých a lehkých řetězců imunoglobulinů ve vztahu k morbiditě pacientů před transplantací jater a v potransplantačním období. *Klinická biochemie a metabolismus.* 2018; **26**, s. 166-172.

BOŘECKÁ K., SEČNÍK P., JABOR A., GRANÁTOVÁ J., BOLKOVÁ M. Srovnání stanovení koncentrace volných lehkých řetězců na analyzátoru Spa PLUS a Image 800. *Klinická biochemie a metabolismus.* 2017; **25**, s. 112-115.